АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

(ТОКСИКОМЕТРИЯ)

Под редакцией проф. И. В. САНОЦКОГО



ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА» МОСКВА — 1970

УДК 613.63-074+613.155.3

Издание одобрено и рекомендовано к печати редакционно-издательским советом при Президиуме АМН СССР

РЕФЕРАТ

Развитие химической промышленности в СССР, внедрение новых химических веществ во все отрасли народного хозяйства ставят перед гигиеной труда задачу обеспечения на производстве условий труда, полностью исключающих развитие профессиональных отравлений и заболеваний. Важная роль в этом принадлежит промышленной токсикологии. В последние годы значительно возросло число лабораторий и лиц, которые занимаются исследованием токсических свойств химических соединений и обоснованием гигиенических рекомендаций (установление предельно допустимых концентраций, мер личной защиты и т. д.) при работе с ними.

В руководстве представлены основные понятия токсикологии, принципы установления предельно допустимых концентраций в воздухе производственных помещений. Приводится описание методик затравки экспериментальных животных с оценкой острого действия яда и коэффициента кумуляции. Специальная часть посвящается описанию общих методов исследования функций органов и систем с целью установления порога действия (функции нервной и сердечно-сосудистой системы, функции печени и почек, определение порога раздражающего действия, состояния энергетических процессов, системы крови и кроветворения). Особое внимание уделяется методам количественного изучения репродуктивной функции самок и самцов при воздействии химических веществ, исследованию канцерогенных и сенсибилизирующих свойств продуктов, приводятся иммунологические и микробиологические методы, применяемые в токсикологии.

Предлагаемое руководство по методам исследования ставит в первую очередь задачу помочь коллективам токсикологов применить те или иные токсикологические методы, выбрав из них наиболее адекватные и чувствительные в зависимости от физико-химических свойств вещества, назначения химического соединения и условий эксперимента, а также использовать методы, имеющие гигиеническую значимость.

5—2—1
284—69

ПРЕДИСЛОВИЕ

Бурное развитие «химического окружения» человека связано со многими опасностями непосредственного и отдаленного эффекта химических воздействий. Эти опасности могут быть ликвидированы только путем дальнейшего развития профилактической работы санитарно-эпидемиологической службы. Основами такой работы являются токсикологический эксперимент и клинико-гигиенические исследования.

В настоящее время фронт токсикологических и клинико-гигиенических исследований значительно расширился. Наряду с увеличением научных коллективов, имеющих богатые традиции, организовано много новых токсикологических лабораторий, состав которых не столь искушен в особенностях и специфике работы токсиколога.

Задачей настоящего руководства является ознакомление с современным состоянием вопроса о токсичности и опасности профессиональных ядов.

В нем рассматриваются некоторые основные понятия токсикологии вообще и токсикометрии в частности, описаны методы моделирования интоксикаций, оценки смертельного эффекта, а также способы установления порогов вредного действия по интегральным (неспецифическим) и патогенетическим (специфическим) показателям. Специально рассмотрены основные показатели опасности (показатели вероятности возникновения отравлений в реальных условиях производства и применения вещества).

Коллектив авторов вынужден был отказаться от рецептурного описания методов исследования и принял форму обзоров. Тем не менее наиболее оригинальные, новые или модифициро-

ванные методы и приборы описываются достаточно подробно, чтобы быть использованными без дополнительных справок в повседневной работе. Не представилось возможным дать отдельной главой описание функциональных нагрузок. Они рассмотрены по ходу изложения другого материала.

Естественно, что руководства, подобные труду, предлагаемому вниманию читателей, в связи с нерешенностью многих вопросов современной токсикологии не могут быть во всех своих частях достаточно полными. Авторы были бы чрезвычайно благодарны за все замечания, пожелания и дополнения.

ЧАСТЬ I. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

ВВЕДЕНИЕ

В связи с бурным развитием химической промышленности в СССР, химизацией всех отраслей народного хозяйства в тесный контакт с массой химических соединений вступает все большее число работающих.

С каждым месяцем из лабораторий и заводов выходит все больше новых химических препаратов: разнообразные мономеры, а также добавки, используемые при изготовлении синтетических материалов, сплавы редких металлов, новые реактивы, красители, лекарства, ядохимикаты и удобрения, новые виды растворителей, ингибиторов коррозии и многие другие вещества, часто обладающие выраженной ядовитостью и опасностью. Эта продукция, естественно, требует безотлагательной токсикологической оценки, которая должна явиться основой предупреждения вредного воздействия химикалий на человека при производстве и потреблении промышленной и сельскохозяйственной продукции. При этом предварительная токсикологическая оценка должна быть выдвинута как можно более близко к месту «рождения» новых веществ и новых технологических процессов. Первичная экспертиза должна сопутствовать их разработке еще «на стадии пробирки», постепенно усложняясь по мере перехода к полузаводскому и заводскому производству. Ранние токсикологические исследования могут помочь избежать ненужных затрат, связанных с заменой более токсичных и более опасных веществ и даже целых технологических процессов менее токсичными и менее опасными, однако обладающими теми же технологическими свойствами.

Токсикология всех направлений (коммунальная, промышленная, сельскохозяйственная, лекарственная и др.)— неразлучная спутница химии. Закладка фундамента профилактики

и терапии возможных отравлений продуктами и полупродуктами химических производст, испытание токсичности новых лекарств, силы действия сельскохозяйственных ядов и многие другие функции токсикологии оказывают непосредственное влияние на скорость развития химии. Без качественного и количественного развития токсикологии поступательное движение химии в определенном смысле могло бы оказаться затрудненным.

В настоящее время всем понятно, что химия не может расти без опасности для здоровья населения, если этот мощный патогенный раздражитель не будет сдерживаться многочисленными и разнообразными защитными мероприятиями. Теоретической базой для организации профилактики интоксикаций и их отдаленных последствий является токсикологический эксперимент.

Токсикология как самостоятельная наука существует с глубокой древности. Как всем хорошо известно, варьируют главным образом два ее определения: токсикология — наука об ядах (перевод, близкий к буквальному) и токсикология — наука о заболеваниях, вызванных химическими веществами.

Правильны ли эти определения? Безусловно, хотя каждое из них имеет свой оттенок: первое — более общий, второе — более клинический. Вместе с тем указанные формулировки сразу же требуют дополнительных разъяснений.

Ближе к существу дела определение, данное Н. В. Вершининым: «Токсикология — учение о химических вредностях, которым при известных условиях может подвергаться человек в общежитии, на производстве, в быту», хотя и оно недостаточно подробно и касается только человека.

Как уже приходилось писать, более близким к истине нам кажется следующее определение предмета токсикологии: токсикология — наука о законах, обусловливающих проявление вредного действия химических факторов внешней среды на организм.

В практическом плане токсикология — наука о п р е д у п р е ж д е н и и, раннем р а с п о з н а в а н и и и у с т р а н е н и и ближайших и отдаленных последствий вредного действия веществ.

Мы склонны заменить слова «вредное действие» словами «действие, ухудшающее жизнедеятельность», однако это могло бы увести нас несколько в сторону.

Современную токсикологию можно условно разделить на два основных и тесно связанных между собой крупных раздела: токсикометрию и патогенез интоксикации. Токсикометрия не только является основой для изучения патогенеза интоксикаций, так как количественно характеризует яд (патогенез на разных уровнях воздействия различен), но содержит в себе ряд прямых тестов, которые по своему характеру являются не чем иным, как методами изучения патогенеза (это прежде всего клиника и патоморфология отравления, но также многие токсикометрические параметры). Вместе с тем без знания патогенеза нельзя построить и полной токсикометрии, например выбрать специфические показатели для характеристики порогов действия яда.

Токсикометрия как система принципов и методов для определения токсичности и опасности химического соединения постоянно развивается. Однако ее задачи ограничены достаточно четко. Патогенез интоксикации не имеет четких границ. Обычно он включает в себя исследования поглощения — распределения — метаболизма — выведения яда, исследования биохимических и биофизических механизмов, патофизиологии, патоморфологии, иммунологии отравления и многие другие исследования.

Практические результаты исследований в двух описанных основных разделах токсикологии весьма разнообразны. Токсикометрия обычно имеет непосредственной целью гигиеническую экспертизу, гигиеническую стандартизацию сырья и продуктов, гигиеническое ограничение содержания ядов во внешней среде (предельно допустимые концентрации и др.).

Исследования в области патогенеза интоксикации обычно используются в практике здравоохранения для разработки методов диагностики отравления (в том числе дифференциальной и ранней), их терапии, в форме тестов экспозиции, методов прогнозирования возможности отдаленных последствий воздействия яда и т. д. (наиболее частые формы исследований и соответствующие им практические результаты объединены в табл. 1).

Однако и здесь неразрывна связь с токсикометрией. Например, как правило, невозможно обосновать тест экспозиции[1] без токсикометрических данных: определению предельно допустимых количеств яда в биосредах обычно предшествует определение предельно допустимых концентраций яда в объек-

[1] Под термином «тест экспозиции» чаще всего понимается количественная характеристика поступления яда в организм на основе определения яда или его метаболитов в биосредах — в моче, в крови, в выдыхаемом воздухе, а в ряде случаев на основе степени угнетения специфических ферментов, например ацетилхолинэстеразы при воздействии многих фосфорорганических соединений.

тах внешней среды. Точно так же проверка активности тех или иных лечебных препаратов не может производиться без предварительного знания смертельных или иных количеств ядовитого начала. Примеры могут быть умножены. В последние годы особенно развились тесно связанные между собой работы по токсикометрии, с одной стороны, и по патогенезу хронических интоксикаций — с другой. Была установлена принципиальная возможность в течение острого или подострого эксперимента определять ориентировочные уровни доз и концентраций, которые вероятны в качестве порога хронического действия. Для ориентира может быть использована величина порога острого действия Lim_{ac} — по патогенетическим показателям; принцип восстанавливаемости состояния организма к моменту следующей затравки (через 18 часов после однократной экспозиции); выявление стадии первичной декомпенсации (И. В. Саноцкий и соавторы) и другие приемы.

Как известно, порог хронического действия Lim_{ch} является основным параметром токсикометрии, который кладется в основу суждения о наиболее важной в практическом смысле величине — величине предельно допустимой концентрации вредного агента в воздухе зоны дыхания работающих.

Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны — такие концентрации, которые при ежедневной работе длительностью не более 8 часов в течение всего рабочего стажа не вызывают у работающих заболеваний или отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследования, непосредственно в процессе работы или в отдаленные сроки.

Рабочей зоной считается пространство высотой до 2 м над уровнем пола или площадки, на которой находятся места постоянного или временного пребывания работающих (СН 245-63).

Предельно допустимые концентрации предназначены как для проектирования производственных зданий, оборудования и вентиляции, так и для создания юридической основы для предупредительного и текущего санитарного надзора, а также для оценки эффективности оздоровительных мероприятий.

Из сказанного становится ясным, что установление ПДК является одной из главных задач токсикометрии.

К решению указанной задачи ведет много путей. Для описания некоторых из них потребуется специальный раздел настоящего руководства. Следует, однако, подчеркнуть, что ПДК не являются величиной, прямо устанавливаемой в биологическом эксперименте. Долголетняя практика токсиколо-

гических и гигиенических исследований привела к созданию необходимости установления коэффициента запаса.

Коэффициент запаса ($K_s = \frac{Lim_{ch}}{ПДК}$), наименее объективизированный в настоящее время параметр, рассчитывается исходя из многочисленных показателей опасности яда (см. стр. 24), а также путем сравнения видовой чувствительности животных и человека, наконец, по аналогии с близкими по строению и действию веществами.

Настоящий труд по существу является описанием этапов установления ПДК, начиная от расчета последних, продолжая их обоснованием в длительном хроническом эксперименте на животных и кончая апробацией и коррекцией указанных величин путем сравнения состояния здоровья работающих на производстве с действующими количествами вредных веществ.

Естественно, что собственно токсикометрии целесообразно предпослать краткий обзор основных понятий токсикологии, без уяснения которых восприятие дальнейшего изложения могло бы оказаться затрудненным.

ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ ТОКСИКОЛОГИИ

Большинство фармакологов до сих пор считают токсикологию незначительной частью фармакологии, а некоторые ученые полагают, что имеют дело с наименее научной ее частью, считают, что вся «наука» здесь заключается в умении вводить яд и смотреть, сколько животных «пало».

На самом деле в учении о биологическом действии веществ в разное время на первое место выходили то отделы, касающиеся полезного — целебного действия химических продуктов, то отделы, касающиеся вредного — ядовитого их действия.

И спор о терминах не имел бы никакого смысла (какая разница, как назвать науку о биологическом действии веществ — фармакологией, как предлагал еще Шмидеберг, который, впрочем, пытался не касаться пищевых веществ, физиологией или патологией, или даже, может быть, «химиобиологией», как предлагает сейчас Г. А. Степанский), если бы в научном обиходе всю токсикологию часто не пытались свести к одному из ее разделов (кстати, очень важному и сложному), посвященному определению степени токсичности и опасности химических продуктов.

Вот почему не одни фармакологи, но также и патофизиологи, гигиенисты всех специальностей, работники сельского

хозяйства, имеющие дело с уничтожением вредителей, работники лесного хозяйства, охраняющие растения от повреждений выбросами химических производств, химики, военные и др. считают токсикологию непременной частью своих наук. Многие из перечисленных специалистов, считая себя компетентными в вопросах токсикологии, с бо́льшим или меньшим успехом проводят работы по определению опасных и безопасных для здоровья и жизни количеств химических препаратов или используют их для создания моделей патологических состояний.

Сложившаяся обстановка является одновременно гордостью и бедой токсикологии. Дело в том, что в настоящее время продолжается процесс кристаллизации основных понятий токсикологии.

В токсикологии вообще, а в профессиональной и коммунальной токсикологии в частности наряду с экспериментами, ставящими своей целью *качественную* оценку патологических процессов, вызываемых химическими факторами, большое значение, как известно, придается экспериментам, посвященным выяснению *количественных* взаимоотношений между вредоносными элементами внешней среды и жизнедеятельностью организма. Указанные эксперименты являются предметом токсикометрии — той части токсикологии, которая имеет дело с конкретными цифрами показателей токсичности и опасности веществ.

Сам термин «токсометрия» (более точно «токсикометрия»), т. е. «измерение токсического действия», предложен Н. С. Правдиным в начале 30-х годов.

Токсикометрия имеет в виду связь количественных изменений с качественными. Еще в своей основополагающей статье Н. С. Правдин писал: «Нельзя, конечно, согласиться с Освальдом, что карболовая кислота и аспирин различаются только количественно и что качественные изменения — в основе только количественные перемещения, но факт несомненно заключается в том, что появлению качественных отличий в характере действия обычно предшествуют количественные изменения в силе действия». Токсикометрия никогда не ограничивалась определением сравнительной токсичности, но предполагала, кроме того, токсикологическую экспертизу, а также обоснование гигиенической стандартизации и гигиенического нормирования.

Поэтому названия работ, начинающихся со слов *«токсикологическая оценка»*, но содержанием которых является по существу только токсикометрия, принижают токсикологию,

вольно или невольно сводят ее к определению токсичности и тем самым вводят в заблуждение неосведомленных лиц.

Вместе с тем необходимо признать, что в определенном смысле термин «токсикометрия» отражает значительную часть практической работы токсикологов. В настоящее время токсикометрия выросла в крупный раздел токсикологии, имеющий свои понятия, свою терминологию, играющий роль не только в токсикологии, но и в смежных науках.

Разумеется, токсикометрия ни в коей мере и ни в какой степени не исчерпывает содержания токсикологии.

Яд и ядовитость (токсичность)

Важнейшим параметром токсикометрии является токсичность (или ядовитость) химического соединения. Однако понятие «токсичность» до сих пор страдает неопределенностью. До сих пор многие авторы под «токсичностью» склонны понимать любое действие яда и даже, как это ни бессмысленно, отсутствие действия. Приходилось слышать и читать такие, например, выражения: «... определение токсичности на уровне пороговых (или даже предельно допустимых!) концентраций». Имеют место предложения классифицировать степень *токсичности* по ПДК (Л. К. Хоцянов, 1958; Е. Н. Марченко, 1966), т. е. по абсолютно безвредным концентрациям и, кроме того, взятым с запасом.

Не следует предъявлять слишком больших претензий авторам указанных выражений и предложений, так как общепризнанного определения основного понятия токсикологии — понятия яда (понятие «токсичность» вытекает из понятия «яд») — не существует.

Казалось бы, какое значение имеет точность в определении понятия яда, если всем известно (в общем и целом), о чем идет речь. Однако указанный вопрос нельзя считать схоластическим или праздным, особенно в тех областях токсикологии, которые непосредственно сталкиваются с проблемами обоснования соответствующего законодательства.

Краткий обзор исторически сложившихся определений понятия яда представлен в монографии Н. С. Правдина «Руководство промышленной токсикологии» (1934). В ней приводятся определения Орфила, Levin, Штаркенштейна.

Например: «Яд — вещество, которое в малом количестве, будучи приведено в соприкосновение с живым организмом, разрушает здоровье или уничтожает жизнь» [Орфил. Руководство по судебной токсикологии (начало XIX века)].

Более поздние определения понятия яда по сути дела перефразируют определения приведенных выше авторов. Так, в Большой медицинской энциклопедии Н. В. Лазарев (1964) определяет яд как вещество, вызывающее в организме патологические изменения химическим путем. Определению Н. В. Лазарева вторит формулировка Olson (1961): «Яды — суть вещества, вызывающие повреждения организма немеханическим путем».

В новом издании учебника по гигиене труда под редакцией Л. К. Хоцянова (1958) помещено определение яда по Штаркенштейну, несколько видоизмененное А. М. Рашевской. В нем делается акцент на болезнетворность действия химического вещества, что целиком совпадает с точкой зрения В. М. Карасика (1933), а также Г. А. Степанского (1967), которые считают, что токсикология — это наука о заболеваниях организма, «вызванных воздействием вредных веществ (resp. ядов)».

Н. С. Правдин объединяет определения Левина (необходимость определенных *условий* действия) и Штаркенштейна (чужеродность, характер действия). Он пишет следующее: «Ядом *может быть названо* всякое вещество, если оно при определенных условиях действия на организм, обыкновенно в том или ином отношении организму несвойственных, действуя на него химически или физико-химически, производит вредные для организма патологические изменения часто с последующим смертельным исходом или непосредственно вызывает смерть»[1].

Правильны ли все приведенные определения? По нашему мнению, приближенно — да. Больше всего импонирует хотя и неточное, но бесхитростное определение Орфила.

Мы полагаем, что отнесение к *условиям* действия яда его *количества* является недоразумением. Химическое строение обусловливает и физические, и биологические свойства вещества. Это предположение принадлежит еще А. М. Бутлерову, однако самая сущность явления ядовитости определяется именно **количественной характеристикой взаимоотношений между химическими компонентами внешней среды и организма.** Одни и те же вещества могут быть одновременно отнесены и к разряду пищевых веществ, и к разряду ядов. («Ядов как таковых не существует» — известный парадокс Гадамера.)

---

[1] Н. С. Правдин. Руководство промышленной токсикологии. М., 1934.

Количественное (или качественное) несоответствие любого поступающего в организм вещества наследственным или приобретенным (в меньшей степени) свойствам организма делает вещество ядом. Не свойственный организму путь поступления вещества и т. п. — все это является лишь отражением указанного ведущего принципа.

Как правило, причиной ядовитости является *количество*, сообщающее веществу в конкретных условиях качественно новые свойства. Если подойти к описанному явлению с другого конца, то столкнешься вплотную со знаменитой формулировкой Парацельса: «Все есть яд, и ничто не лишено ядовитости; одна лишь доза делает яд незаметным».

Наша точка зрения близка к мнению И. П. Павлова: «Что такое патологическое состояние?, — писал он. — Это встреча, соприкосновение организма с каким-нибудь чрезвычайным условием, вернее с необычным размером (разрядка наша. — *И. С.*) ежедневных условий».

Итак: яд — **химический компонент среды обитания, поступающий в количестве (реже — качестве), не соответствующем врожденным или приобретенным свойствам организма, и поэтому несовместимый с его жизнью.**

Наше определение в принципе согласуется с определениями промышленных ядов по Фишеру, а также по Леви. Нельзя, однако, не отметить безнадежный тон обоих определений. По Фишеру, «к промышленным ядам относятся те сырые продукты, фабрикаты, полуфабрикаты и отбросы производства, которые при их добавлении, обработке и применении в промышленных предприятиях, несмотря на принятые меры предосторожности, все-таки проникают в организм рабочего химической промышленности в таком количестве, что становятся опасными (разрядка наша.— *И. С.*) для его здоровья».

Формулировку Фишера дополняет Леви: «К профессиональным отравлениям относятся такие, которые возникают в связи с профессиональной работой, как ее профессиональная особенность, вследствие того, что газы, пары и твердые частицы попадают в организм рабочего в опасных для здоровья количествах — или постепенно, вызывая хроническое отравление, или внезапно, при несчастном случае, стихийных бедствиях и т. п.; не могущих быть предупрежденными гигиеническими мероприятиями, имеющимися в распоряжении современной техники, и тогда вызывающих острое отравление».

Как нам кажется, профессиональными ядами следует называть химические вещества, встречающиеся

в процессе трудовой деятельности человека в качестве исходных, промежуточных, побочных или конечных продуктов в форме газов, паров или жидкостей, а также пылей, дымов или туманов, оказывающие вредное действие на работающих людей в случае несоблюдения правил техники безопасности и гигиены труда и как следствие последнего попадания в организм в количестве, не соответствующем его наследственным и приобретенным свойствам (о том, что в ряде случаев речь идет о чуждом организму качестве, уже говорилось).

Из сказанного следует, что все или почти все промышленные вещества потенциально являются ядами.

Степень ядовитости (токсичности) того или иного вещества издавна измерялась его абсолютным количеством, вызывающим определенный биологический эффект.

Хотя Н. С. Правдин впоследствии предлагал оценивать степень токсичности по двум показателям: по смертельной дозе (концентрации) и по «минимальной токсической концентрации» (пороговой), он справедливо указывал на трудность интерпретации последнего показателя. «... Для политропных ядов пороговых концентраций, теоретически говоря, может быть почти столько же, сколько физиологических функций может нарушать данный яд»,— писал он и далее предлагал находить «интегральные показатели».

Определение токсичности как свойства химической молекулы оказывать вредное действие (наиболее распространенное определение), по нашему мнению, неудачно, так как, во-первых, всякое вещество может оказывать вредное действие при соответствующем количестве, во-вторых, не всяким вредным действием, по нашему мнению, можно измерять токсичность.

В статье «Содержание и задачи токсометрии» Н. С. Правдин писал: «Несмотря на большие индивидуальные колебания скорости наступления смерти, самый момент смерти все-таки может быть установлен достаточно объективно. Относительно других показателей отравлений даже и этого сказать нельзя».

Таким образом, надо измерять токсичность по смертельному эффекту. Абсолютная токсичность — величина, обратная абсолютному значению дозы или концентрации, вызывающей смерть животных. Наиболее статистически достоверна CL_{50} или DL_{50}[1]. Токсичность — это $\frac{1}{CL_{50}}$, $\frac{1}{DL_{50}}$.

[1] Н. С. Правдин. Методика малой токсикологии промышленных ядов. М., 1947.

Большинство исследователей в настоящее время присоединяются к изложенному выше пониманию термина «токсичность» и классифицируют яды по половинным смертельным дозам или концентрациям.

Ассоциация промышленных химиков США (Industrial Chemical Assotiation) в 4-м издании «Warning Labells» дает следующее определение понятия яда: «Яд — вещество или смесь веществ, которые относятся к одной из следующих категорий:

а) вызывает в течение 48 часов смерть половины или более половины из группы в 10 или более лабораторных белых крыс весом 200—300 г при однократной дозе 50 мг или менее на 1 кг веса тела при введении через рот, или

б) вызывает в течение 48 часов смерть половины или более животных группы в 10 или более лабораторных белых крыс весом 200—300 г, если они вдыхают в течение 1 часа или менее воздух при концентрации 2 мг/л или менее газа, пара, тумана или пыли».

Официальная классификация сильнодействующих ядов в СССР также основана на их смертельных количествах. К указанному классу отнесены вещества, смертельная доза которых для человека составляет $\leq$ 0,1 г (А. К. Прокофьева, 1962).

В официальных санитарных правилах проектирования, оборудования и содержания складов для хранения сильнодействующих ядовитых веществ (СДЯВ), разработанных Киевским институтом гигиены труда и профессиональных заболеваний и утвержденных заместителем главного санитарного врача (№ 534-65 от 24/VI 1965 г.), к СДЯВ отнесены по существу все химические промышленные вещества, в том числе даже и органические кислоты. Это лишает истинные СДЯВ того особого внимания, которое они, несомненно, заслуживают.

Количественное выделение СДЯВ имеет юридический смысл, так как может оказать влияние на решение суда. Четкое отделение «ядов» от «неядов», по-видимому, упрощает судопроизводство. Вместе с тем научная трактовка явления показывает, что токсичность — величина относительная, познается в сравнении (см. работы Н. С. Правдина в книге «Оценка сравнительной токсичности химических веществ»). Отсюда вытекает необходимость классифицирования степени токсичности. По нашему мнению, выделение крупных классов токсичности (в наиболее распространенных классификациях — по смертельным количествам) дает возможность лишь отдаленного сравнения (табл. 2 и 3). Более удобна непрерывная шкала токсичности. Попытка создания подобной шкалы была сделана нами. За 100% относительной токсичности (при ингаляции)

Таблица 2

Комбинированная табуляция классов токсичности (по Hodge и Sterner)

Степень токсичности	Термин	DL_{50} однократно per os, крысы (мг/кг)	Ингаляция паров 4 часа (части на 1 млн.), смертность (2—4 крысы из 6)	Кожа кроликов DL_{50} (мг/кг)	Вероятная DL для человека
1	Чрезвычайно токсично	<1	1—10	<5	Следы, 1 гран (0,07 г)
2	Высокотоксично	1—50	10—100	5—43	1 чайная ложка (4 мл)
3	Умеренно токсично	50—5000	100—1000	44—340	1 унция (30 г)
4	Малотоксично	500—5000	1000—10 000	350—2810	1 пинта (0,47 л)
5	Практически нетоксично	5000—15 000	10 000—100 000	2 820—22 590	1 кварта (0,95 л)
6	Относительно безвредно	>15 000	>100 000	>22 600	>1 кварты

Таблица 3

Разряды абсолютной токсичности ядов при ингаляционном и энтеральном путях поступления и степени опасности ингаляционных отравлений (по С. Д. Заугольникову с соавторами)

Разряды по убывающей степени токсичности и опасности	Чрезвычайно токсичные	Высокотоксичные	Сильно токсичные		Умеренно токсичные		Малотоксичные	Практически не токсичные
	I	II	IIIA	IIIБ	IVA	IVБ	V	VI
CL_{50} или частично смертельная концентрация в мг/л	Ниже 1	1—5	6—10	11—20	21—40	41—80	81—160	Выше 160
Ориентировочные величины ПДК в мг/м³	До 1	1—8	5—10	20—30	50—100	200	300—500	500

Продолжение

Разряды по убывающей степени токсичности и опасности	Чрезвычайно токсичные	Высокотоксичные	Сильно токсичные		Умеренно токсичные		Малотоксичные	Практически не токсичные
	I	II	IIIA	IIIБ	IVA	IVБ	V	VI
Смертельные концентрации в долях от насыщения	До 0,003	0,003—0,01	0,011—0,03	0,031—0,10	0,11—0,30	0,31—0,99	Концентрация насыщения вызывает гибель	не вызывает гибели
DL_{50} или частично смертельная доза в мг/кг	Ниже 1	1—50	51—150	151—500	501—1500	1501—5000	5001—15 000	Более 15 000

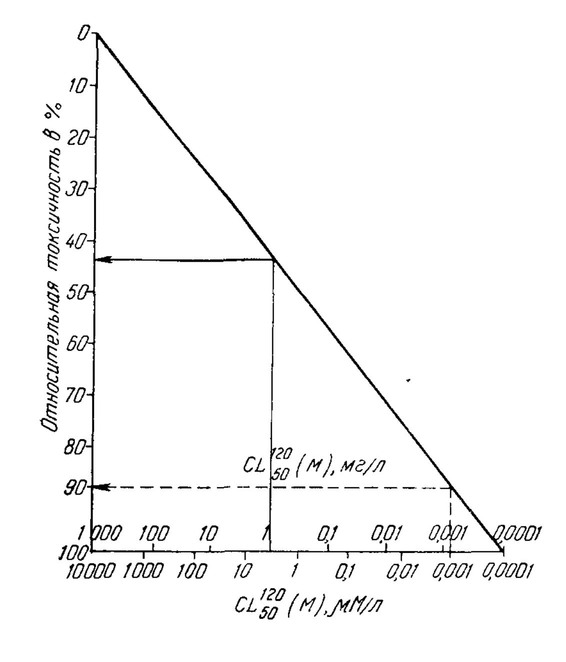


Рис. 1. График расчета относительной токсичности. Шкалы мг/л и мМ/л не связаны между собой.

предложена токсичность наиболее ядовитых фосфорорганических и других соединений: $CL_{50\,м}^{120} = 0{,}0001\ \mu M/л$ (половинная смертельная концентрация, установленная при 120-минутной экспозиции в опытах на мышах). Сравнение токсичности возможно лишь по молекулярным, но не по весовым концентрациям[1], ибо яды как химические вещества реагируют с биосубстратами в молекулярных, ионных и тому подобных отношениях. За 0% относительной токсичности предложена токсичность углекислого газа: CL_{50} около 10 000 $\mu M/л$. Степень относительной токсичности любых веществ определяется по графику, который легко может быть построен каждым по памяти (рис. 1). Более подробно вопросы классификации степени токсичности, которая в известном смысле отражает опасность отравления (хотя и неполно), рассмотрены отдельно (И. В. Саноцкий, 1967).

Мы кратко описали становление таких основных понятий, как «яд» и «токсичность», упомянули о системе приемов токсикологической оценки новых химических веществ с целью обоснования гигиенических мероприятий на производстве (гигиеническая стандартизация продуктов, обоснование предельно допустимых концентраций, замена более вредных веществ безвредными или менее вредными и др.) — токсикометрии.

Одним из главнейших понятий токсикометрии является понятие порога вредного действия вещества на организм.

Порог вредного действия

Критерий вредности

Как указывал Н. С. Правдин, родоначальником количественной промышленной токсикологии является Леман, внесший в практику метод сравнительной оценки промышленных ядов. Количественные исследования ядовитости, разумеется, велись и до Лемана; заслугой последнего является возведение их в систему. Вместе с тем Леман и более поздние исследователи (Фюнер, Н. А. Кравков, Н. В. Лазарев в начале своей деятельности и др.) при определении токсичности основывались главным образом на явлениях выраженной острой интоксикации: боковое положение, наркоз, смерть и т. п. Определение А. И. Черкесом порога действия боевых отравляющих веществ (БОВ) как минимальной дозы или концентрации, вызывающей клинические явления отравления, было перенесено в промышленную токсикологию под

[1] Для текущего и предварительного санитарного надзора более удобны весовые концентрации.

названием «токсическая» доза или концентрация (весьма субъективный показатель).

Н. С. Правдин выступил против ограниченности оценки вещества по клиническим симптомам интоксикации. Он указывал, что промышленные интоксикации прежде всего проявляются «в других формах, симптомах и изменениях, чем острые и хронические отравления, изучаемые обыкновенно токсикологией. Из этих изменений особого внимания заслуживают те, которые сопровождаются не явным нарушением здоровья, а лишь понижением работоспособности организма и скрытым предрасположением к общим заболеваниям, в частности к инфекционным»[1]. Иными словами, речь шла о необходимости определения порога действия яда. Н. С. Правдин считал необходимым подчеркивать, что мы должны определять не просто порог действия, а порог вредного действия, применяемый метод исследования должен иметь гигиеническую значимость.

В настоящее время указания Н. С. Правдина приобретают особое звучание в связи с настойчивыми требованиями привлекать в качестве показателей порога острого действия *любые* наиболее чувствительные показатели (часто случайные), в том числе и лишенные критерия вредности (имеются в виду условия производства).

На наш взгляд, здесь обычно упускают из вида то обстоятельство, что само понятие критерия вредности непостоянно и зависит, как и все другое, от условий и целей исследования.

Критерии вредности (гигиенической значимости показателей по Н. С. Правдину) для разных условий воздействия ядов различны. Если для условий атмосферы населенных мест любое достоверное и сохраняющееся отклонение любого показателя жизнедеятельности организма в большинстве случаев может трактоваться как проявление вредного действия вещества, то для условий воздуха производственных помещений не всякое отклонение от нормы (хотя бы и достоверное) и далеко не всякого показателя жизнедеятельности может считаться вредным.

Это объясняется тем, что в условиях быта изменение химического состава среды обитания до такой степени, что оно замечается организмом, недопустимо, так как возможность круглосуточного действия веществ по сравнению с воздействием в течение 6—8-часовой смены способствует материальной ку-

[1] Н. С. Правдин. Руководство промышленной токсикологии. М., 1934, стр. 9.

муляции и, вероятно, снижает пределы истинной адаптации (последнее утверждение требует дополнительных обоснований). Кроме того, описанный критерий вредности для атмосферы населенных мест объясняется проживанием в них детей, стариков и больных.

В условиях лекарственных воздействий, т. е. воздействий относительно редких, бывают допустимы существенные изменения организма. В этих случаях критерий вредности, конечно, совсем другой: вредно то действие, которое создает в организме трудно контролируемые изменения, опасные для здоровья или жизни, при однократном или немногократном применении. Еще раз целесообразно напомнить, что в этом случае даже такие дозы мышечных релаксантов, которые без искусственного контроля дыхания вызвали бы смерть, естественно, должны классифицироваться как полезные.

Таким образом, конкретное понятие критерия вредности различных медико-биологических показателей обусловливает их выбор для установления порогов действия ядов — главного параметра токсикометрии для обоснования безопасных (предельно допустимых) концентраций ядов.

Какие реакции организма на воздействие ядов в условиях производства отвечают критерию вредности (обладают гигиенической значимостью)? Прежде всего, конечно, появление явно патологических процессов и состояний — некробиотические процессы, воспалительные реакции, патологическое возбуждение нервной системы, вплоть до судорог, или патологическое торможение вплоть до наркоза и параличей и другие выраженные клинические, морфологические и функциональные признаки.

К сожалению, явная патология свидетельствует уже о болезни и может быть использована только для определения масштаба действующих концентраций. Порог вредного действия по своей сути связан с переходными процессами между физиологическими реакциями адаптации и состоянием «полома», выражаясь языком И. П. Павлова, т. е. патологическим процессом.

Благодаря описанному подходу, американские токсикологи критикуют нас за «неопределенность» понятия порога вредного действия. Сами они в большинстве случаев ориентируются на грубые морфологические изменения.

Доказательству вредности изменений функциональных показателей при воздействии того или иного вещества может помочь выявление снижения способности приспособления организма к внешней среде, к среде производственной.

Исходя из приведенного принципа, изменение высшей нервной деятельности большинством исследователей трактуется как изменение психической (зоопсихической) работоспособности, что при переносе на человека в условиях производства даже при изменениях в границах физиологических колебаний может свидетельствовать о возможности тяжелых последствий, связанных с уменьшением внимания и т. п. Таким образом, в указанном случае явления физиологические при проекции в реальные условия жизни, предъявляющие повышенные требования к организму, могут трактоваться как вредные. Все высказанное относится к снижению нервно-мышечной работоспособности.

Что касается изменения других интегральных (например, спонтанная подвижность) и специфических (например, состояние отдельных рефлексов) показателей соматической сферы, то здесь прямая проекция в производственную среду не дает прямого ответа на вопрос о вредности действия вещества. Обычно применяются логические умозаключения разной степени ценности. Мы полагаем, что для трактовки указанных изменений как изменений вредных недостаточно достоверности отклонений от контроля. Необходима, кроме того, мера значительности этих отклонений. Поскольку часто степень повреждения не прямо пропорциональна изменению того или иного рефлекса, вопрос должен стоять *об уровне физиологических колебаний.*

«Вредными для организма следует считать реакции, которые еще находятся в пределах физиологических колебаний, но переходят в патологические в условиях длительного постоянного воздействия вызвавших их раздражителей» (Э. Б. Курляндская и И. В. Саноцкий, 1965). Установить точно и определенно этот переход представляется делом сложным, так как провести четкие границы между патологическим и физиологическим чрезвычайно трудно.

По нашему мнению, порогом вредности следует считать «достоверные отклонения от контроля, а также от исходных величин реакций комплекса наиболее чувствительных к тому или иному воздействию физиологических систем, находящихся на границе между функциональными колебаниями, физиологической мерой защиты и патологическими процессами»[1].

Следовательно, при установлении ПДК следует исходить из комплекса физиологических реакций и физиологических пределов приспособляемости, а не из поражения, даже ком-

[1] Э. Б. Курляндская, И. В. Саноцкий. Гигиена труда и профзаболевания, 1965, 3, 3.

пенсированного в какой-то период времени, тем более что фаза компенсации по существу является фазой хронического воздействия (Н. С. Правдин, 1960; А. А. Канаревская, 1962; А. И. Корбакова, 1962; Н. А. Минкина, 1962, 1965).

Скрытая неустойчивость равновесия организма со средой обитания может выявляться с помощью функциональных нагрузок [дополнительное воздействие разнообразных физических и химических факторов, частично описанных в книге М. Л. Рыловой (1964), в работах лаборатории Э. Б. Курляндской и во многих других работах].

Применение метода функциональных нагрузок требует специального описания. Однако предварительно необходимо напомнить основной принцип: те функциональные нагрузки, которые сами по себе оказывают заметное действие, могут применяться лишь как итоговые тесты. Применение таких функциональных нагрузок в процессе, например, хронического воздействия ведет к тому, что по существу начинает изучаться не изолированное действие химического агента, а *комбинированное* действие двух факторов. Описанная методическая ошибка, к сожалению, получила распространение, что затрудняет или делает невозможной трактовку многих экспериментов. Если достаточно мощная функциональная нагрузка должна быть применена в процессе хронической затравки несколько раз, то для этого должны быть подготовлены специальные группы животных, выводимые из опыта.

При изучении изменений вегетативной сферы так же, как и при других исследованиях, интегральные показатели более значимы, чем показатели фрагментарные, выявляющие изменения отдельных звеньев вегетативных процессов.

Например, изменение сопротивляемости инфекции по тесту смертности или по тесту кожной воспалительной реакции при проекции в реальные условия жизни окажутся отвечающими критерию вредности. Такие показатели, как титр антител или фагоцитарная активность и т. п., по мнению О. Г. Алексеевой, для трактовки степени вредности требуют дополнительных функциональных нагрузок. Точно так же достоверное и значительное изменение потребления кислорода целым животным во многих случаях может трактоваться как явление вредное, ибо оно отражает состояние энергетических процессов в организме вообще. Вместе с тем изменение активности отдельных ферментов (без одновременного изучения субстрата, нагрузок), которое все чаще многими кладется в основу суждения о вредности воздействия, хотя и имеет широкую перспективу, однако требует специальных приемов исследования

(см. стр. 231), ибо во многих случаях остается не ясным, насколько угнетение одних ферментов компенсируется повышением активности других.

Все указанное касалось главным образом порога острого действия. Что касается порога хронического действия ядов, то здесь перед исследователями нередко возникают еще более запутанные картины в связи с выраженными процессами компенсации патологических состояний. Методы дифференцирования истинной адаптации от ложной подробно рассмотрены Э. Б. Курляндской. Одной из основ и здесь является метод функциональных нагрузок.

Сравнение ядов по пороговым концентрациям может вестись только на основе равноценных показателей — для новых веществ — на основе интегральных. Внутри группы однородных веществ сравнение плодотворнее по патогенетическому показателю. Трудности в том, что патогенетические показатели, как установлено, часто изменяются уже при однократном воздействии яда на уровне порога хронического действия (И. В. Саноцкий и соавторы). Трактовка подобных изменений у подопытных животных бывает затруднительной.

Сочетанное применение интегральных и специфических показателей при употреблении функциональных нагрузок, по нашему мнению, во всех случаях дает возможность четкого установления величины порога вредного действия профессионального яда. В настоящее время согласовано определение порога вредного действия химических соединений в профессиональных условиях.

Порог вредного действия вещества — минимальная концентрация (или доза), которая вызывает изменения в организме, характеризующиеся следующими признаками:

а) Изменения достоверно ($P < 0{,}05$) отличаются от контроля и выходят за пределы ($> 2\sigma$) физиологических колебаний показателя для данного вида животных для данного времени года.

б) Достоверных ($P < 0{,}05$) изменений по сравнению с контролем нет, однако наблюдаются скрытые нарушения равновесия с внешней средой (сужение возможности адаптации), выявляемые, в частности, при помощи функциональных и экстремальных нагрузок (реакции выходят за пределы $\pm 2\sigma$ соответствующей нормы).

в) Изменения достоверно ($P < 0{,}05$) отличаются от контроля, находятся в пределах физиологической нормы, однако стойко сохраняются (в эксперименте на животных — более 1 месяца).

Токсичность и «опасность» яда

Под опасностью яда, как известно, Н. С. Правдин подразумевал возможность возникновения интоксикации при действии яда в естественных условиях. Подобное определение было дано также и за рубежом, в частности Goldwater (1961): «Опасность отравления есть вероятность того, что повреждение может быть вызвано при том технологическом процессе, при котором соединение применяется». От чего зависит опасность яда? Ранее всего, пожалуй, был выдвинут критерий опасности в токсикологии лекарств под названием индекса терапевтической широты (имеется в виду отношение смертельной дозы или концентрации к лечебной).

Со значительным по сравнению с токсикологией лекарств опозданием был обозначен критерий опасности ингаляционного отравления в промышленной токсикологии. Вполне правомерно, что этим критерием оказалась *летучесть* вещества, т. е. способность образовывать газовую фазу. В 1912 г. Леман предложил оценивать сравнительную токсичность веществ не только по концентрациям, вызывающим определенное биологическое действие (как правило, в качестве показателя такового Леманом превлекалось боковое положение животных — субъективный критерий), но также и по их сравнительной летучести. Термин Лемана «двухфазная токсичность» означает произведение относительной токсичности на относительную летучесть. Таким образом, малотоксичное, но высоколетучее вещество в условиях производства может оказаться гораздо более опасным, чем высокотоксичное, но малолетучее. В связи с тем что трехфазность в действии ядов была подробно описана Н. В. Кравковым (фаза вхождения, насыщение и выведение яда), во избежание путаницы Н. С. Правдин предложил вместо термина Лемана «двухфазная токсичность» употреблять термин «эффективная токсичность». В отсутствие открытой жидкости (например, утечка пара из трубопровода) в воздухе при данной температуре может создаться только определенная концентрация пара вещества, характерная для него, зависящая от температуры кипения и теплоты испарения; при понижении температуры среды паровая фаза в этом случае сама образует фазу жидкую в виде конденсата на поверхностях.

«Эффективная токсичность», несмотря на всю прогрессивность понятия, в первозданном состоянии страдала неопределенностью, так как условия ее определения не были оговорены (температура помещения, вид животных, длительность

экспозиции и т. д.), что ограничивало применимость этого показателя. В 1943 г. Werner и соавторы исследовали эффективную токсичность при 7-часовой экспозиции в опытах на мышах при температуре 25°. В указанном случае эффективная токсичность была названа индексом опасности. Позже в западных странах под индексом опасности стали понимать эффективную токсичность, определенную в опытах на белых крысах при 4-часовой экспозиции при температуре среды 25°.

По нашему мнению, термин «индекс опасности» слишком неопределенен: опасности чего, при каких условиях? Мы считали необходимым ввести свой, более конкретный термин, а именно «коэффициент возможности ингаляционного отравления» (КВИО), который выражается отношением:

$$\frac{C^{20°}}{CL^{120}_{50}\,м},$$

где $C^{20°}$ — максимально достижимая концентрация при 20°, CL^{120}_{50} м — половинная смертельная концентрация для белых мышей при экспозиции 120 минут (распространенные у нас условия опыта). КВИО — одна из форм выражения эффективной токсичности, дающая возможность сравнивать отдельные вещества между собой (табл. 4).

Таблица 4

Классификация степени опасности промышленных ядов по величине зон острого и хронического действия, а также по величине коэффициента опасности ингаляционного отравления (КВИО)

Показатель	Величина показателя и степень опасности		
	малоопасно	средняя опасность	высокоопасно
$Z_{ac} = \frac{CL_{50}}{Lim_{ac}}$	> 25 (широкая зона)	7—24 (средняя зона)	< 6 (узкая зона)
$Z_{ch} = \frac{Lim_{ac}}{Lim_{ch}}$	< 3 (узкая зона)	4—9 (средняя зона)	> 10 (широкая зона)
$КВИО = \frac{C^{20°}}{CL^{120}_{50}\ м}$	До 10 (низкий)	До 100 (средний)	До 1000 (высокий)

Кроме указанного подхода к определению опасности яда, существовал другой подход, основанный на изучении особенностей реакции организма. Так, например, раньше, когда основным методом оценки вещества было определение смертельных концентраций, опасность яда устанавливали по углу наклона кривой смертельных концентраций к абсциссе: чем вертикальнее линия смертности, тем опаснее вещество.

Опасность обратно пропорциональна величине коэффициента вариабельности смертельных концентраций $\frac{CL_{100}}{CL_0}$ или с познанием статистики $\frac{CL_{84}}{CL_{16}}$; функции угла наклона

$$S = \frac{\frac{CL_{84}}{CL_{50}} + \frac{CL_{50}}{CL_{16}}}{2}.$$

Указанный прием применяли многие авторы, среди них Н. С. Правдин, Н. В. Лазарев, В. М. Карасик. Недавно тот же прием повторен Н. А. Толоконцевым, а также Ю. С. Каганом: опасность яда прямо пропорциональная tg α — тангенсу угла наклона прямой эффекта — по методу пробит-анализа — к линии абсцисс. tg α — менее объективный показатель (И. П. Уланова и др., 1967), ибо зависит от масштабов координат.

Чем объясняется то обстоятельство, что индивидуальные различия реакции на введение яда в одном случае велики (напомним, что линия эффекта является инвертированной кривой нормального распределения индивидуальных чувствительностей), т. е. появляются особи высоко- и низкочувствительные, а в другом случае разницы в индивидуальных реакциях на яд почти нет? По-видимому, не столько особенностями вещества, сколько особенностями организма. Впрочем, явление ядовитости неразрывно объединяет вещество и организм и вряд ли следует искать начало у этого круга.

Следует указать, что Н. А. Толоконцев, правильно упоминая о генетической связи зоны токсического действия с индексом терапевтической широты, ошибается, когда отождествляет величину опасности, вычисленную при обработке данных о смертельных концентрациях, с величиной опасности, вычисленной на основании определения зоны токсического действия, расположенной между смертельными концентрациями и порогом острого действия (идея и термин Н. С. Правдина). Дело в том, что коэффициент вариабельности смертельных концентраций, как правило, резко отличается от величины «зоны токсического действия» (см. табл. 4).

Таким образом, tg α выражает только степень вероятности смертельного эффекта при воздействии яда в высоких концентрациях. Вместе с тем Н. А. Толоконцев прав, когда утверждает, что величина зоны «токсического действия» страдает неопределенностью, так как одни авторы считали таковой отношение $\frac{CL_{100}}{Lim_{ac}}$, другие $\frac{CL_{50}}{Lim_{ac}}$, третьи $\frac{CL_0}{Lim_{ac}}$, а В. А. Филов даже $\frac{CL_{100}}{C_{наркоз}}$.

Эта неопределенность происходит, по нашему мнению, с одной стороны, из того, что сам Н. С. Правдин нигде не указал, какую смертельную концентрацию он имеет в виду, с другой стороны, из того, что разные ветви токсикологии имеют свою специфику. Как уже указывалось, например, минимальная токсическая концентрация — термин, пришедший без достаточных оснований в промышленную токсикологию из токсикологии БОВ, где он означает минимальную концентрацию, вызывающую клиническую картину отравления. Получается, что зона токсического действия одного и того же вещества, но употребляемого в качестве БОВ или в качестве промышленного продукта, будет разной.

Что касается смертельных концентраций, то, конечно, самой достоверной является CL_{50}, хотя от этого определенность понятия зоны токсического действия увеличивается не намного, ибо порог действия до сих пор, как правило, не устанавливается статистически как CE_{50} (концентрация, вызывающая пороговый эффект у 50% животных).

Идея о важности зоны, расположенной между смертельными концентрациями и минимальной действующей (именно между CL_0 и CE_0), независимо от Н. С. Правдина была высказана Rove с соавторами.

С повсеместным введением в практику токсикологических исследований хронического эксперимента возник новый параметр токсикометрии: порог хронического действия.

Во избежание путаницы при новых обстоятельствах мы предложили называть зону токсического действия (термин Н. С. Правдина) зоной острого действия, равной $\frac{Cl_{50}}{Lim_{ac}}$, а отношение $\frac{Lim_{ac}}{Lim_{ch}}$ называть зоной хронического действия.

Величина зоны хронического действия, по нашему мнению, удовлетворительно характеризует опасность возникновения хронической интоксикации: чем она шире, тем опасность больше, так как больше кумулятивные свойства яда; хроническое отравление развивается скрыто.

Сравнивая все описанные критерии опасности яда с предельно допустимыми концентрациями, установленными эмпирически, но апробированными долголетней практикой, нам удалось подметить определенные закономерности, касающиеся величины коэффициента запаса[1] ($K_s = \frac{Lim_{ch}}{ПДК}$).

С течением времени объекты токсикологических исследований усложняются. В настоящее время часто приходится изучать ядовитость и опасность малолетучих соединений при длительном воздействии всевозможных смесей веществ, часто включающих в себя аэрозоли конденсации, и др. С перечисленными проблемами токсиколог сталкивается, в частности, при изучении биологического действия пластических масс. Смеси веществ, образующихся из пластических масс при их окислительной и тепловой деструкции, под воздействием излучений и т. д.— прежде всего предмет пристального изучения для химиков. Впредь до расшифровки состава смесей, определения кинетики соответствующих химических реакций, а также динамики физико-химических процессов (адсорбции, десорбции, диффузии и др.) некоторые авторы рекомендуют установить хотя бы временно критерий токсиколого-гигиенической оценки полимеров и изделий из них, т. е. выбрать некоторую «единицу» для характеристики возможной опасности материала. В. Д. Бартенев и соавторы считают, что эта «единица» должна учитывать вес, площадь материала, фактор времени и др. В качестве одного из возможных вариантов решения предлагается потенциальная «насыщенность» воздушного объема, измеряемая в $м^2/м^3$, т. е. показывающая, какая поверхность пластика (поверхность выделения возможных вредностей) приходится на 1 $м^3$ воздуха.

Не только количественные критерии *опасности* ядов позволяют подойти к логически обоснованному определению мер профилактики, в частности предельно допустимых концентраций. В настоящее время становится все более очевидным, что одна количественная оценка опасности недостаточна. Необходима качественная оценка опасности веществ по характеру их действия (раздражающий яд, наркотик, канцероген, мутаген, эмбриотропный яд и т. п.). Нетрудно заметить, что качественная оценка опасности веществ требует изучения отдаленных последствий интоксикации.

---

[1] Для обозначения того же понятия имеют хождение следующие термины: «индекс безопасности», «гарантийная поправка», «коэффициент надежности» и даже «коэффициент прочности».

Последним критерием опасности является собственно токсичность, ибо чем выше токсичность, тем легче при прочих равных условиях создать в воздухе опасные концентрации.

Заключение

В настоящем разделе были кратко рассмотрены лишь некоторые понятия токсикологии, лежащие в ее основе — понятия яда, токсичности и опасности, порогов действия. Попутно описаны менее важные, хотя и существенные понятия. Все разделы токсикологии этим, естественно, не исчерпаны. Частично мы вернемся к ним в других главах.

ПРИНЦИПЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

Предельно допустимые концентрации — это такие концентрации химических веществ, которые при ежедневном воздействии в течение рабочего дня, при работе в течение неограниченно продолжительного времени не могут вызвать у работающего заболеваний или каких-либо отклонений от нормального состояния, обнаруживаемых современными методами исследования (А. А. Летавет, 1962) (см. стр. 8).

Американская конференция промышленных правительственных гигиенистов (American conference of Government industrial Hygienists) определяет предельно допустимую концентрацию (Threshold limit value — «величина порогового предела») как «условия, при которых почти все рабочие могут быть повторно подвергнуты воздействию день за днем без неблагоприятного эффекта. В связи с широкой вариабельностью индивидуальной чувствительности, воздействие на уровне «порогового предела» или ниже его не может предотвратить дискомфорт, ухудшение предсуществующего патологического состояния или профессионального заболевания у отдельных индивидуумов» (Threshold limit value, 1965).

Подобное определение дается Международным симпозиумом по максимально допустимым концентрациям токсических веществ в промышленности (Truhaut, 1964).

Smith в своей лекции «Стандарты правильного обращения с химикатами» на Международной выставке «Химия в промышленности, строительстве и сельском хозяйстве» в Москве в 1965 г. так объясняет различия советских и американских стандартов: «Советская точка зрения заключается в том, что

стандарт должен воспрепятствовать медленно развивающемуся поражению, так же как вдыханию вещества в концентрациях, которые вызывают какую-либо обнаруживаемую нейро-физиологическую реакцию, даже если эту реакцию нельзя считать неблагоприятной. Американская точка зрения заключается в том, что пороговые дозы должны предотвратить воздействия концентраций, которые рабочий сознательно воспринимает как неблагоприятные и которые могут уменьшить производительность его труда или безопасность или вызовут боли и потерю сил. Мелкие неудобства мы считаем допустимыми».

Таким образом, имеются две значительно отличающиеся концепции в оценке существа ПДК и оптимума среды.

Необходимо добавить, что в настоящее время при определении понятия ПДК почти нигде не ставится вопрос о благополучии потомства родителей, работающих с химическими веществами. Только отдельные авторы (например, Burger, Г. А. Степанский) специально вводят этот пункт в определение понятия ПДК.

Большие споры в разных странах вызывает вопрос о том, следует ли относить ПДК к средним величинам в пространстве времени или к максимальным величинам, обнаруживаемым в рабочей зоне. Предельно допустимые концентрации в СССР являются максимальными в течение рабочей смены (З. Б. Смелянский, 1957). В определении, принятом в США для безопасных концентраций, это формулируется следующим образом. «Установленные величины относятся к взвешенным во времени средним концентрациям для нормального рабочего дня».

Ориентировка ПДК на некоторую среднюю для 8-часового рабочего дня в разных точках рабочего помещения, в разные моменты рабочего времени, соответствующие разным фазам производственного процесса, была бы практически неосуществимой. Тем не менее ряд исследователей (Stokinger, J. Teisinger, Smith, З. А. Волкова и др.) полагают, что для тех веществ, токсический эффект которых обусловлен общей дозой за все время воздействия (например, свинца, марганца, кремния и др.), пороговый эффект и ПДК могут рассматриваться как средневзвешенные во времени величины. Немногие исследователи (например, J. Teisinger) занимают промежуточную позицию.

Несомненно, для ряда веществ (раздражающих, остронаправленного антиферментного действия) более важны кратковременные концентрации, здесь нельзя полагаться на усредненную по времени дозу (HCN, акролеин, фосген, мышьяковистый водород и др.). В связи с указанным даже в США в

последнее время в санитарных нормах, помимо средних взвешенных концентраций, приводятся и максимальные концентрации («потолочные»). Однако максимальных концентраций в нормах США относительно немного: только 37 из всего списка.

Как было указано, мы считаем, что понимание ПДК как концентрации, максимальной в течение смены, наиболее надежно защищает здоровье работающих.

Можно считать установленным фактом большую вредность действия не только раздражающих, но и типично кумулятивных ядов, в переменных концентрациях по сравнению с действием тех же ядов в средних за тот же срок, но постоянных концентрациях (Н. А. Толоконцев и др.). Аналогичное явление описано, например, для окиси углерода (И. Д. Гадаскина с соавторами и др.).

Таким образом, мнение большинства ученых все больше склоняется в сторону понимания ПДК как концентраций максимальных, хотя контроль таких концентраций в ряде случаев затруднителен. Хотелось бы напомнить, что в США нет единого мнения по указанному вопросу. Комитет Z-37 Американского Комитета стандартов трактует ПДК как концентрации, максимальные в течение смены.

В настоящее время в литературе, особенно американской, появляются обоснования безопасных концентраций при кратковременном пребывании человека в загрязненной атмосфере (5, 10, 15, 30, 60 минут) — «аварийные» ПДК. Мы полагаем, что в силу постоянно имеющих место процессов диффузии газов, конвекционных токов и перемещений воздушных масс под действием искусственной вентиляции очень кратковременные повышения концентраций токсического вещества в рабочей зоне на практике встречаются редко. Поэтому установление таких концентраций для производственных условий мало оправдано, тем более что их контроль в условиях производства вряд ли во всех случаях полностью осуществим.

Сопоставление ПДК, принятых в СССР, и «пороговых величин», принятых в США, показывает, что в СССР в целом приняты более низкие цифры ПДК, чем в США. Величины расхождений, однако, различны в разных группах токсических веществ. По большинству раздражающих газов имеются незначительные различия между советскими и американскими цифрами, а по некоторым ПДК почти полностью совпадают. Для некоторых раздражающих газов имелись весьма существенные расхождения до 1964 г.: по ацетальдегиду — в 70 раз, по фосгену — в 8 раз. Однако уже в рекомендациях 1964 г.

ПДК (TLV) для фосгена была снижена в США в 10 раз и в настоящее время она даже несколько ниже, чем в СССР. Была снижена также TLV для аммиака: если до 1964 г. расхождения были в $3^1/_2$ раза, то теперь только в $1^1/_2$ раза; то же можно сказать об акролеине, для которого TLV в США ниже, чем ПДК в СССР. Более значительными являются различия в отношении углеводородов. Наибольшей высоты расхождения в советских и американских нормах достигают в отношении хлорированных углеводородов; здесь американские цифры превышают советские в среднем в 25 раз.

К сожалению, нет возможности сравнить ПДК, установленные в СССР и США, с ПДК, установленными в других странах, так как в ряде стран просто копируются американские стандарты, в других — берутся промежуточные величины, иногда даже средние между советскими и американскими нормами.

Различия в понимании сущности ПДК еще не исчерпывают различий теоретических основ гигиенического нормирования химических факторов производственной среды. Часто в качестве одной из ведущих предпосылок гигиенического нормирования промышленных ядов выдвигается положение о так называемой технической достижимости ПДК. Советская гигиена труда в настоящее время твердо встала на точку зрения примата медицинских показаний перед так называемой технической достижимостью сегодняшнего дня. Научно обоснованные гигиенические нормативы должны вести инженерно-техническую мысль вперед к созданию более совершенной производственной технологии и более совершенного производственного оборудования. В условиях быстрого технического прогресса то, что кажется трудно преодолимым сегодня, может оказаться разрешимым завтра (А. А. Летавет).

Самой сложной проблемой в теории ПДК является проблема пороговости всех типов вредного действия как основы для гигиенического нормирования, особенно таких, как мутагенный, бластомогенный или сенсибилизирующий.

ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ДЛЯ ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ СПЕЦИФИЧЕСКИМИ ВИДАМИ ДЕЙСТВИЯ

(генетическим, бластомогенным, сенсибилизирующим)

Мнение о том, что действие веществ, вызывающих половые или соматические мутации (модификации), не может иметь порога, основано на теоретическом представлении о механизме нарушения передачи наследственной информации. Считают, что любые количества «экзогенных» или «эндогенных» токсинов в принципе способны вызвать перестройки в молекулах нуклеиновых кислот, входящих в состав хромосом. Дело здесь осложняется тем, что большинство фактов химического мутагенеза (см. обзор И. А. Раппопорта) установлено исключительно на насекомых. Поэтому не мудрено, что в список мутагенов включены даже такие вещества, как алкалоиды чая и этиловый спирт.

Указанные данные, как правило, не проверены на млекопитающих, что не представляет возможности обоснованного их использования в гигиенической практике (И. В. Саноцкий, 1965; Н. В. Лазарев, 1966). Количественной характеристики минимально действующих доз и концентраций не дается, стало быть, не создаются основы для гигиенического нормирования.

Порог вредного действия для ртути, свинца и некоторых органических перекисей на потомство установлен в экспериментах на беспородных белых мышах (Г. М. Егорова и соавторы, 1966; И. В. Саноцкий и соавторы, 1967, 1968). Однако при действии этиленимина (супермутаген для дрозофил) на уровне концентраций, пороговых по показателям общетоксического действия, выраженных изменений ($P < 0{,}05$) у потомства крыс не обнаружено. Следует, однако, помнить, что вещества, вызывающие мутации у более 5% популяций (т. е. $P < 0{,}05$), некоторые генетики считают «супермутагенами». Следовательно, просто мутагены остаются ниже указанной границы, и исследования по установлению порога их действия должны вестись с более высокой степенью достоверности.

Таким образом, если нельзя исключить из производства «супермутагены», их действующие количества необходимо ограничить. Основа для такого ограничения — порог действия — может быть установлена в эксперименте на млекопитающих. К сожалению, многие мутагены нормируются по общетоксикологическим тестам (см. табл. 5).

Сложен вопрос о нормировании химических веществ, обладающих бластомогенной активностью. Многие считают, что в основе такого действия лежат соматические мутации или модификации. Очевидно, наиболее правильным является изъятие указанных веществ из производства. Там, где это невозможно, установление ПДК является наиболее правильным решением, способным гарантировать их безопасное применение.

Очевидно, что установление порога бластомогенного действия будет одним из отправных моментов установления санитарной нормы содержания веществ в воздухе, так как, по нашему мнению, веществам, обладающим канцерогенной активностью, как и вообще химическим веществам, также присуща пороговость действия.

Нельзя согласиться с рекомендациями США, указывающими в своих нормах нулевые уровни для некоторых канцерогенов (β-нафтиламина, нитрозодиметиамина и др.) без ссылки на чувствительность метода их определения в воздухе, так как отрицательный ответ химического анализа еще не свидетельствует об отсутствии канцерогенов в воздухе. Их концентрации могут находиться ниже чувствительности метода, но быть биологически активными.

Вопрос о нормировании канцерогенов требует разработки критериев их вредности, уточнения методов экспериментальных исследований и накопления фактического материала. За основу для установления ПДК можно принять хотя бы формулу суммированного действия по Друкрею (как уступку сторонникам беспороговости), т. е. выбирать ту концентрацию или дозу, которая «вызовет» эффект за пределами человеческой жизни (например, через 100 лет).

В свете описанных представлений многие онкологи сменили категорический отказ от возможности установления ПДК для канцерогенов призывом к осторожности и к индивидуальному подходу к отдельным канцерогенным веществам (Л. М. Шабад, Л. А. Андрианов, 1966; Л. М. Шабад, 1966).

Очевидно, на тех же основах необходимо устанавливать ПДК для веществ, обладающих выраженными аллергическими свойствами. Однако чувствительность людей к аллергенам настолько различна, что пороги действия, а следовательно, и ПДК для отдельных людей могут отличаться весьма значительно (в десятки тысяч раз). Вероятно, при установлении ПДК для веществ, обладающих аллергическим действием, следует ориентироваться не на наиболее чувствительных людей, а на лиц, обладающих обычными реакциями. Высокочувствительных индивидуумов необходимо освобождать от контакта с сенсибилизирующим веществом, что по существу и делается в настоящее время в производственных условиях.

В последнее время в СССР были нормированы стрептомицин, аминазин и другие активные сенсибилизаторы (табл. 5).

Таблица 5

Список предельно допустимых концентраций сенсибилизаторов и мутагенов (САНИТАРНЫЕ НОРМЫ СН 245-63)

СЕНСИБИЛИЗАТОРЫ

	ПДК (мг/м³)		ПДК (мг/м³)
1. Гексаметилендиамин	1	10. Пыль льняная, мучная и др., не содержащая SiO_2	10
2. Гексаметилендиизоцианат	0,05	11. Бериллий и его соединения	0,001
3. Нафталин	20	12. Никель, окись никеля	0,5
4. Скипидар	300	13. Хромовый ангидрид, хроматы, бихроматы	0,1
5. Толуилендиизоцианат	0,5	14. Стрептомицин	0,1
6. Формальдегид	10,5		
7. Фталевый ангидрид	1		
8. Аминазин	0,3		
9. Эпихлоргидрин	1		
(принята в 1967 г.)		(принята в 1967 г.)	

МУТАГЕНЫ

1. Гексаметилендиамин (3)	1,0	11. Диэтиламин (3)	30,0
2. Гидразин и его производные (1)	0,1	12. Изопрен (3)	40,0
3. Гидроперекись изопропилбензола (3)	1,0	13. Йод (1)	1,0
4. Диизопропиламин (3)	5,0	14. 2-метил-5-винилпиридин (3)	2,0
5. Диметиламин (3)	1,0	15. 6-метил-2-винилпиридин (3)	0,5
6. Диметилдиоксан (3)	10,0	16. Третбутилперацетат (3)	0,1
7. Диметилформамид (3)	10,0	17. Трихлорбензол (3)	10,0
8. Диоксан (3)	10,0	18. Фенол (1)	5,0
9. Дитретбутилперекись (3)	100,0	19. Формальдегид (1)	0,5
10. Диэтиламиноэтилмеркаптан (3)	1,0		

Примечание: 1 — по данным опытов на Drosophila melanogaster.
2 — по данным цитогенетических исследований.
3 — по аналогии.

СПОСОБЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Долгое время принципы и подходы обоснования ПДК не были унифицированы. Достаточно сказать, что сроком хронического отравления одни авторы считали 3 недели, а другие 2 года!

На основании решения Горьковской сессии Академии медицинских наук СССР (1964) ПДК устанавливается в СССР в два этапа: 1) обоснование ПДК в опытах на животных (приурочивается к периоду лабораторной и полузаводской разработки новых соединений); 2) корректирование указанных ПДК путем изучения условий труда работающих.

Вещества, которые синтезированы только в лаборатории и для которых еще не известны перспективы их промышленного применения (или производство будет ограниченным), исследуются не по полной программе, а в объеме первичного токсиколого-гигиенического паспорта нового соединения, утвержденного Пленумом проблемной комиссии по научным основам гигиены труда и профпатологии.

Для предварительной характеристики промышленных веществ применяются также расчетные и экспрессные методы.

Расчетные методы основаны на сопоставлении физико-химических и биологических свойств химических соединений. Поскольку свойства вещества зависят от его структуры, сделаны попытки установления прямых корреляций (Г. Н. Заева, А. И. Корбакова с соавторами).

Вместе с тем наиболее точные результаты, как известно, получаются при использовании для расчета ПДК данных о силе биологического действия вещества. В настоящее время для характеристики силы действия вещества наиболее часто применяются половинные смертельные дозы и концентрации (Е. И. Люблина и А. А. Голубев; Г. Н. Заева и др.).

Таким образом, простейшей формой биологической оценки нового вещества является токсикологическая экспертиза (определение токсичности, т. е. смертельных доз и концентраций, а также определение характера действия яда). Как было указано, данные экспертизы могут быть использованы как основа для предварительных гигиенических рекомендаций, в частности для расчета приблизительных ПДК вещества в зоне дыхания работающих.

Методы определения токсичности описаны в специальном разделе настоящего руководства. Характер действия яда (при остром отравлении) определяется главным образом по клинической картине интоксикации и патоморфологическим изменениям, хотя последние при острой смерти животных обычно не представляют чего-либо специфичного. В этом смысле гораздо более показательно исследование выживших животных в разные сроки после отравления.

Расширенной токсикологической экспертизой является токсиколого-гигиенический паспорт нового соединения. Подобной

паспортизации должны быть подвергнуты все новые вещества, внедряемые в промышленность. Первичный токсикологический паспорт должен явиться неотъемлемой частью технологического регламента.

По сути дела первичный токсикологический паспорт содержит значительную часть полной программы обоснования ПДК в эксперименте на животных в соответствии с Временными методическими указаниями, за исключением хронического эксперимента.

Хронический эксперимент завершает токсикометрию яда. Однако этим не заканчивается его полная характеристика, которую дает динамическое наблюдение за состоянием здоровья людей, работающих в контакте с исследуемыми соединениями, при одновременном изучении производственной среды. Решающими характеристиками здесь являются действующие концентрации ядов, их колебания во времени. Требования к клинико-гигиеническим исследованиям рассмотрены в специальном разделе книги (стр. 292), поэтому здесь целесообразно ограничиваться лишь описанием расчетных и экспериментальных методов установления ПДК и эксперимента на животных.

Установление предельно допустимых концентраций профессиональных ядов в воздухе рабочих помещений с помощью расчетных методов

Хорошо известно, что экспериментальное обоснование новых ПДК по полной программе требует значительного времени (около 8 месяцев—1 года). Поэтому в различных лабораториях предпринимаются попытки к выявлению закономерностей, которые связывают различные уровни вредного действия ядов. Указанные закономерности выявлены Е. И. Люблиной, А. А. Голубевым, В. А. Филовым (1967), К. Бочеком и др. Обзор литературы приведен в «Руководстве по гигиене труда» (1963), в разделе «Методы предварительного расчета предельно допустимых концентраций».

Советские авторы широко применяют метод корреляций, который привел к положительным результатам. Так, Е. И. Люблиной и А. А. Голубевым (1967) составлена инструкция по установлению расчетным способом ориентировочных ПДК промышленных ядов в воздухе рабочих помещений, где для расчета ориентировочных ПДК газов и паров органических соединений по показателям токсичности рекомендуются следующие два уравнения:

$$\lg \text{ПДК} = \lg C_1 + 1{,}7 + \lg M \quad (1)$$

$$\lg \text{ПДК} = \lg DL_{50} - 2{,}0 \lg M \quad (2)$$

где ПДК — предельно допустимая концентрация в миллиграммах на $1 м^3$;

C_1— пороговая концентрация в мМ/л, вызывающая изменения в характеристиках безусловного сгибательного рефлекса у кроликов при 40-минутной экспозиции.

DL_{50}— смертельная доза для 50% белых мышей при введении вещества в желудок в 0,2 мл рафинированного подсолнечного масла, выраженная в мМ/кг;

М — молекулярный вес.

Уравнения (1) и (2) можно заменить еще более простыми формулами:

$$\text{ПДК (мг/м}^3) = 50 \cdot C_1 \text{ (мг/л)} \quad (1а)$$

$$\text{ПДК (мг/м}^3) = 0{,}01 \cdot DL_{50} \text{ (мг/кг)}. \quad (2а)$$

При наличии сведений о пороговой и смертельной концентрациях наилучшее приближение к установленным ПДК достигается применением формулы, учитывающей соотношение между C_1 и CL_{50}:

$$\lg \text{ПДК (мг/м}^3) = 0{,}25 \lg C_1 + 0{,}71 \cdot \lg CL_{50} + 0{,}25 + \lg M \ (3).$$

Для расчетов ПДК высококипящих органических соединений, находящихся в воздухе рабочих помещений в виде аэрозолей (в частности, пестицидов), рекомендуется следующее уравнение, основывающееся на дозе, смертельной для 50% мышей или крыс при введении через рот:

$$\lg \text{ПДК (мг/м}^3) = \lg DL_{50} \text{ (мМ/кг)} - 3{,}1 + \lg M. \quad (4)$$

Предельно допустимую концентрацию неорганических газов и паров рекомендуется рассчитывать по следующему уравнению:

$$\lg \text{ПДК (мг/м}^3) = \lg CL_{50} \text{ (мМ/л)} + 0{,}4 + \lg M. \quad (5)$$

Предельно допустимую концентрацию для аэрозолей окислов или других малорастворимых соединений металлов приближенно можно рассчитать (с меньшим приближением, чем для органических соединений) по следующему уравнению:

$$\lg \text{ПДК (мг/м}^3) = 0{,}85 \cdot \lg DL_{50} \text{ (мА/кг)} - 3{,}0 + \lg M + \lg N, \quad (6)$$

где DL_{50}— смертельная доза для 50% мышей при внутрибрюшинном введении и недельном периоде наблюдения, выраженная в миллиатомах на 1 кг веса (подлежащее инъекции вещество предварительно растирают в ступке с рафинированным подсолнечным маслом, служащим разбавителем);

М — молекулярный вес;

N — число атомов металла в молекуле вещества.

В тех случаях, когда необходимо предложить ориентировочное значение ПДК веществ, для которых отсутствуют нормированные гомологи и данные о показателях токсичности, рекомендуется расчет ориентировочных ПДК производить по физико-химическим константам. Однако в настоящее время подобные расчеты рекомендуются только для органических веществ, физико-химические константы которых укладываются в следующие границы:

молекулярный вес	от 30 до 300
удельный вес	от 0,6 до 2,0
точка кипения	от минус 100° до плюс 300°
точка плавления	от минус 190° до плюс 180°
показатель преломления	от 1,3 до 1,6

Расчет следует проводить по одной из приведенных ниже формул, в основании каждой из которых находится одна из физико-химических констант:

$$\lg \text{ПДК} = -0{,}058\ \sigma + 1{,}12 + \lg M \quad (7)$$

$$\lg \text{ПДК} = -10\ \eta_D + 14{,}2 + \lg M \quad (8)$$

$$\lg \text{ПДК} = -0{,}012\ t_{\text{пл.}} - 1{,}2 + \lg M \quad (9)$$

$$\lg \text{ПДК} = -0{,}01\ M + 0{,}4 + \lg M \quad (10)$$

$$\lg \text{ПДК} = -0{,}01\ t_{\text{кип.}} + 0{,}6 + \lg M \quad (11)$$

$$\lg \text{ПДК} = 0{,}48 \lg P - 1{,}0 + \lg M \quad (12)$$

$$\lg \text{ПДК} = -2{,}2\ d + 1{,}6 + \lg M, \quad (13)$$

где ПДК выражены в миллиграммах на $1 м^3$;

σ — поверхностное натяжение жидкости в динах на 1 см при 20°;

γ_{d} — показатель преломления;
$t_{пл.}$ — точка плавления;
M — молекулярный вес;
$t_{кип.}$ — точка кипения;
P — упругость пара в миллиметрах ртутного столба;
d — удельный вес.

Расчет по одной константе редко бывает удовлетворительным. Рекомендуется провести расчет по всем имеющимся константам данного вещества (как правило, не меньше, чем по двум). Расчет доводится до lg ПДК и берется число по среднему логарифму из всех рассчитанных по разным физико-химическим свойствам.

При расчете ПДК по физико-химическим константам по возможности следует отдавать предпочтение поверхностному натяжению и точке плавления; во вторую очередь — поверхностному натяжению и удельному весу; в третью (при отсутствии данных о поверхностном натяжении) — удельному весу и точке плавления. При отсутствии сведений о поверхностном натяжении и точке плавления расчет рекомендуется проводить по удельному весу с точкой кипения или с показателем преломления. При отсутствии данных о поверхностном натяжении и удельном весе целесообразно использовать точку плавления и показатель преломления.

При расчете по трем константам в отсутствие данных о поверхностном натяжении следует использовать наиболее часто известные константы: точку плавления, удельный вес и молекулярный вес.

Приведенные эмпирические формулы выведены на основании сопоставления с установленными предельно допустимыми концентрациями физико-химических констант различных органических веществ, обладающих как неспецифическим, так и специфическим действием. Расчет ПДК по любой из формул, основывающихся на физико-химических свойствах, для веществ с крайними типами действия (резко выраженным специфическим или, наоборот, преимущественно неспецифическим) дает значительные отклонения от узаконенных или рекомендованных предельно допустимых концентраций. При этом расчетные ПДК для веществ с крайними типами действия (резко выраженным специфическим или, наоборот, преимущественно неспецифическим) дают значительные отклонения от узаконенных или рекомендованных предельно допустимых концентраций. При этом расчетные ПДК для веществ, обладающих малой химической активностью и преимущественно неспецифическим действием, оказываются заниженными, а

для веществ с выраженной химической активностью и преимущественно специфическим действием — завышенными (что наиболее опасно). Поэтому для ряда веществ расчет ПДК по физико-химическим константам требует применения поправок, выраженных в логарифмах, на химическое строение этих веществ.

При расчете ПДК по формулам (7—13) для веществ, относящихся к некоторым классам химических соединений, требуется внесение в окончательный результат расчета специальных поправок (логарифм рассчитанной ПДК должен быть увеличен или уменьшен на величину соответствующей поправки).

Рекомендуется применение следующих поправок на химическое строение вещества.

1. Насыщенные алифатические углеводороды	+0,5
2. Насыщенные кетоны, спирты, простые и сложные эфиры жирного ряда	+0,5
3. Углеводороды циклические насыщенные и с бензольным кольцом (за исключением бензола и других первых членов гомологического ряда)	+0,5
4. Соединение с тройной связью в прямой цепи	—0,5
5. Амины жирного ряда до C_8	—1,0
6. Анилин и его производные	—1,0
7. Ангидриды кислот	—1,0
8. Циклические соединения, содержащие в боковой цепи группу NO_2	—1,0
9. Соединения с группой ONO_2 в прямой цепи	—1,0
10. Наличие двойной или тройной связи вместе с активными элементами или группой (Cl, Br, F, NO_2, OH) в прямой цепи	—1,0
11. Вещества, содержащие эпоксигруппу	—1,5
12. Фосфорорганические соединения	—1,5
13. Альдегиды	—1,5
14. Соединения, отщепляющие группу CN	—2,0

Г. Н. Заева (1965) установила некоторые общие количественные соотношения параметров токсикометрии веществ, включая и ПДК, применительно к ингаляционному воздействию газов и паров органических промышленных веществ на основе закономерности, лежащей в основе динамики действия яда.

Общие количественные соотношения параметров токсикометрии имеют следующий вид.

а) через CL_{100}

$$CL_{50} \sim 0,5 \cdot CL_{100};$$
$$CL_{0} \sim 0,08 \cdot CL_{100};$$

$$Lim_{ac} \sim 0{,}007 \cdot CL_{100};$$
$$ПДК \sim 0{,}0005 \cdot CL_{100};$$
или
$$ПДК\ (мг/м^3) \sim 0{,}5 \cdot CL_{100}\ (мг/л);$$

б) через CL_{50}

$$CL_{100} \sim 2 \cdot CL_{50};$$
$$CL_0 \sim 0{,}15 \cdot CL_{50};$$
$$Lim_{ac} \sim 0{,}014 \cdot CL_{50};$$
$$ПДК \sim 0{,}0013 \cdot CL_{50};$$
или
$$ПДК\ (мг/м^3) \sim 1{,}3 \cdot CL_{50}\ (мг/л);$$
$$ПДК\ (мг/м^3) \sim CL_{50}\ (мг/л).$$

Выражение ПДК через Lim_{ac} имеет вид:

$$ПДК\ (мг/м^3) \sim 66.\ \ Lim_{ac}\ (мг/л).$$

По инструкции Е. И. Люблиной и А. А. Голубева (1966) соотношение между ПДК и порогом однократного действия по изменению безусловного рефлекса у кроликов (C_1) очень близко к нашему, т. е. ПДК $(мг/м^3) = 50 \cdot C_1$ (мг/л).

Для неорганических газов и паров авторы предлагают такое соотношение: ПДК $(мг/м^3) = 2{,}5 \cdot CL_{50}$ (мг/л).

В то время как в нашем случае для органических веществ это соотношение имеет вид: ПДК $(мг/м^3) = 1{,}3 \cdot CL_{50}$ (мг/л).

Найденные количественные соотношения основных параметров токсикометрии веществ позволяют создать на их основе экспрессный метод применительно к задачам экспертизного исследования новых промышленных ядов (с расчетом ориентировочных ПДК).

Для расчета ПДК веществ в пределах одного гомологического ряда с уже нормированными гомологами можно использовать зависимость следующего вида:

$$ПДК = \frac{M}{\Sigma\, l_i} \cdot 1000\ мг/м^3, \qquad (14)$$

где M — молекулярный вес;
l_i — величины биологических активностей химических связей атомов, присутствующих в молекуле (в л/μМ).

В табл. 6 приводятся величины l_i для разных рядов соединений, вычисленных как средние величины из нормированных гомологов ряда.

Таблица 6

Величины биологической активности химических связей нормированных соединеий различных гомологических рядов

Химические связи	(l_i в л/μМ)	Ряды соединений
1	2	3
>C—H	0,8	Предельные, непредельные, циклические, нециклические и замещенные углеводороды
>C—H	21273,9	Продельные альдегиды (у карбонильной группы)
>C—C<	51,4	Предельные нециклические углеводороды
>C—C<	173,7	Предельные циклические углеводороды
>C=C< (сопряженная связь[1])	242,4	Непредельные нециклические углеводороды
>C=C<	451,8	Непредельные нециклические углеводороды
>C=C<	1126,5	Незамещенные ароматические углеводороды
>C=C<	507,9	Замещенные ароматические углеводороды с одной и двумя боковыми цепями
>C=C<	7057,9	Замещенные ароматические углеводороды с непредельной боковой цепью
—C≡C—	2097,1	Непредельные углеводороды с тройной связью
>C—N≪	—6242,7	Нитросоединения алифатического ряда (одна связь >C—N≪ у углерода)
>C—N≪	154446,3	Нитросоединения алифатического ряда (четыре связи >C—N≪ у углерода) из тетранитрометана
>C—N≪	119027,8	Циклические мононитросоединения
>C—N≪	27970,0	Ароматические мононитросоединения

Продолжение

Химические связи	(I_i в л/рМ)	Ряды соединений
1	2	3
>C—N<	77851,5	Ароматические динитросоединения
>C—N<	66442,0	Ароматические тринитросоединения
>C—N<	6113,5	Первичные алифатические амины
>C—N<	1565,7	Вторичные алифатические амины
>C—N<	3266,2	Третичные алифатические амины
>C—N<	35914,6	Алифатические диамины
>C—N<	97551,4	Циклические амины
>C—N<	33302,0	Ароматические амины
>C—N<	16680,8	Амиды
>C—N<	4817,6	Гетероциклические соединения
>C=N—	9635,2	Гетероциклические соединения
—C≡N	97856,8	Цианиды
>C—O—	21987,7	Нециклические окиси
>C—O—	2465,7	Гетероциклические окиси
>C—O—	68,1	Алифатические простые эфиры
>C—O—	6535,3	Сложные эфиры предельных спиртов
>C—O—	10306,9	Сложные эфиры непредельных спиртов
>C=O	213,8	Предельные кетоны

Продолжение

Химические связи	(I_i в л/рМ)	Ряды соединений
1	2	3
>C=O	8753,8	Циклические предельные кетоны
>C=O	-12517,8	Предельные альдегиды (у карбонильной группы)
—O—H	8507,9	Органические кислоты
—O—H	-21648,2	Одноатомные предельные спирты
—O—H	100223,6	Непредельные спирты
—O—H	-5214,5	Ароматические спирты
>N—H	283,3	Аммиак
>N—O—	2230,3	Окислы азота
>N=O	4460,6	Окислы азота
—N=C<	1644538,3	Алифатические изоцианы
—N=C<	139778,4	Ароматические изоцианы
>N—N<	318864,8	Неорганические амины

[1] Сопряженная связь (>C=C<) отличается от обычной связи тем, что она в молекуле соединения чередуется со связями (>C—C<).

Делением молекулярного веса на величину общей биологической активности соединения (ΣI_i) получается ПДК искомого соединения. При определении ΣI_i нормируемого соединения следует наряду с использованием связи конкретного гомологического ряда включать и связи, являющиеся общими для многих гомологических рядов (например, >C—H, >C—C< и др.).

Наличие дифференцированных величин li в различных рядах (даже и для одних и тех же связей) позволяет учитывать разновидности специфики действия веществ на уровне ПДК.

При расчете ориентировочных значений ПДК промышленных ядов в пределах одного гомологического ряда с уже нормированными гомологами целесообразно пользоваться обоими приведенными методами с рекомендацией среднего значения ПДК из рассчитанных по экстра-и интерполяции и по сумме биологических активностей химических связей.

Экспрессные методы установления предельно допустимых концентраций

Установление предельно допустимых концентраций новых веществ по аналогии

В 1943 г. Smith и Carpenter предложили известную «пробу на нахождение в ряду» (Range findung test); имелся в виду ряд близких по строению веществ. Путем постановки нескольких исследований с новым веществом подбирали ему место по характеру и силе биологического действия в ряду близких по строению соединений.

Вначале были использованы следующие показатели: порядок величины однократной минимальной смертельной дозы при введении веществ в желудок (крыса), при проникновении через кожу (кролик), частично смертельная концентрация пара при ингаляции (крыса), местное действие на кожу и глаз (кролик). В основу изучения токсичности продуктов был положен прием Deichmann, LeBlanc. В последующих публикациях методика была несколько расширена, в частности была использована повторная затравка животных в течение месяца. В последних сообщениях Range findung test авторы (1961) вновь изменили методику. Она была описана следующим образом.

1. Определение токсичности при однократном введении в желудок через зонд на группах из 5 крыс-самцов породы Гарворд—Вистар (изредка применялись 4—5-недельные самки из собственного питомника весом 90—120 г, содержащиеся на полной диете Рокленда). Дозы выбирают в геометрической прогрессии с шагом в 2 раза. Вещества вводят по возможности в нерастворенном виде. Если нужна меньшая концентрация, в качестве растворителей применяют воду или масло. Применяют также суспензии на полутвердом агаре, иногда на водном 25% растворе 3,9-диэтил-6-деконалнатрий-сульфата. Период наблюдения после затравки 14 дней. DL_{50} определяют по методу Томпсона или по таблице Вайля.

2. Определение проникания вещества через кожу кролика по методу Драйзе и соавторов. Применяют группы из 4 белых кроликов-самцов новозеландской породы весом 2,5—3,5 кг. Животных иммобилизируют на 24 часа (период экспозиции). Вещество накладывают на выстриженную кожу и покрывают пластиковой пленкой. Период последующего наблюдения 14 дней. DL_{50} вычисляют по методам, указанным выше.

3. Определение токсичности при вдыхании концентрированных паров. Применяется динамический режим, концентрации насыщения создаются при протягивании комнатного воздуха со скоростью 2,5 л/мин через бутыль, куда налито 5 мл испытуемого вещества; статистические группы из 6 крыс-самцов или самок. Экспозиция изменяется от $^1/_4$ часа до 8 часов с тем расчетом, чтобы найти время, которое вызывало бы гибель приблизительно половины животных за 14 дней последующего наблюдения.

4. Определение токсичности при 4-часовой ингаляции на крысах (изредка длительность экспозиции увеличивается до 8 часов). Устанавливается концентрация, вызывающая гибель части животных при последующем 14-дневном наблюдении. В группах по 6 животных. Концентрации каждый раз изменяются в 2 раза в геометрической прогрессии. Учитываются концентрации, не вызывающие смерти, а также абсолютно-смертельные при указанных выше условиях.

5. Изучение первичного раздражения кожи проводят на кроликах. Реакцию кожи учитывают по десятистепенной системе и основываются на наибольшей реакции, которая развивается на закрытой коже у каждого из 5 белых кроликов в течение 24 часов при нанесении 0,01 мл неразведенного препарата или его раствора в воде, пропиленгликоле или ацетоне.

Степень 1 — раздражение.

Степень 2 — капиллярное кровенаполнение при воздействии неразведенного вещества.

Степень 6—некроз при воздействии неразведенного вещества.

Степень 10 — некроз при воздействии 0,01% раствора.

6. Повреждение глаз оценивается на кроликах по десятистепенной системе, основанной на выраженности некроза роговицы в зависимости от количества и концентрации вводимого препарата.

Степень 1 — очень малая область некроза при введении 0,5 мл неразведенного препарата.

Степень 5—серьезный ожог при введении 0,005 мл вещества.

Степень 10 — тяжелый ожог при введении 0,5 мл 0,1% раствора препарата в воде или пропиленгликоле.

На основе сопоставления степени реакции неизвестного соединения по всем пунктам со степенью реакции изученных веществ возможны рекомендации профилактических мероприятий, в том числе и приблизительных ПДК (хотя сами авторы об этом нигде не говорят).

Скоростные методы оценки токсичности разрабатывались и в СССР. Много внимания этой работе уделено А. О. Лойтом. Предложенная им система предусматривает:

I. Получение информации о физико-химических свойствах веществ, условий их применения.

II. Определение токсичности при вдыхании паров, при введении веществ в желудок и нанесении на кожу.

Ингаляционное воздействие: в бутылях (статический эксперимент из расчета 10 л на одну мышь при экспозиции 2 часа). Определяется концентрация вещества, вызывающая смерть 1—3 животных из 4 взятых в опыт, при сроке наблюдения 7 дней. Концентрации выбирают с десятикратным интервалом. Концентрации выше 160 мг/л не испытывают.

Введение вещества в желудок — все вещества для единообразия в виде масляных растворов или взвесей — 0,2 мл на одну мышь через 4 часа после лишения корма. Устанавливается частично смертельная доза (гибель 1—3 мышей из 4 взятых в опыт). Срок наблюдения 7 дней.

Нанесение на кожу хвоста мыши (погружение в чистый продукт 70 мм хвоста, в опыте 2 животных). Экспозиция 2 часа, срок наблюдения 7 суток.

Токсичность при нанесении на кожу учитывается по пятибалльной системе.

Результат опытов	Разряд по убывающей степени токсичности
Гибель одного или обоих животных в опыте	1
Гибель одного или обоих животных после опыта	2
Животные живы, необратимые изменения кожи хвоста	3
Животные живы, обратимые изменения кожи хвоста	4
Животные живы, кожа не изменена	5

III. Выявление кумулятивных свойств при ингаляции. Ежедневно две одночасовые затравки с одночасовым перерывом. Общий срок затравок 2 недели при ранее установленной частично смертельной концентрации.

В опыт берут 16 мышей: 8 подопытных и 8 контрольных. Результаты: I — сильная кумуляция — гибель всех животных.

II — умеренная кумуляция — гибель 3 — 7 животных.

III — слабая кумуляция — гибель 0 — 2 животных.

IV. Расчет ПДК по формулам Е. И. Люблиной и А. А. Голубева.

Следует подчеркнуть, что схема, предложенная А. О. Лойтом, особенно метод установления выраженности кумулятивных свойств, весьма условна. Более обоснованные методы определения кумулятивных свойств будут описаны отдельно.

Первичный токсикологический паспорт

Данные, изложенные в первичном токсикологическом паспорте нового соединения, имеют целью дать более полную характеристику вещества, достаточную для обоснования более значительных профилактических мероприятий.

Как следует из первичного токсикологического паспорта, условия биологического эксперимента должны соответствовать «Временным методическим указаниям к проведению экспериментальных исследований для обоснования ПДК вредных веществ в воздухе производственных помещений».

Ниже мы помещаем бланк паспорта и таблицу основных условий эксперимента (табл. 7, 8).

Таблица 7

Первичный токсиколого-гигиенический паспорт нового соединения

(название вещества)

I. Область применения вещества:

II. Условия применения вещества:

III. Сведения о физико-химических свойствах и способы химического определения:

1. Эмпирическая формула вещества.
2. Структурная формула вещества.
3. Молекулярный вес.
4. Удельный вес.
5. Точка кипения.
6. Точка плавления.
7. Упругость пара в миллиметрах ртутного столба при 20°.

8. Насыщающая воздух концентрация в миллиграммах на литр при 20°.
9. Поверхностное натяжение.
10. Коэффициент преломления.
11. Температура воспламенения.
12. Химическая реакционная способность (гидролиз, окисляемость, способность к полимеризации и т. д.).
13. Растворимость в воде, масле, органических растворителях (весовые проценты).
14. Содержание примесей (наименование веществ) в процентах.
15. Для пылей — дисперсность аэрозоля.
16. Для полимерных материалов:
а) количество остаточного мономера;
б) добавки (наименование, количество их) в процентах;
в) продукты термоокислительной деструкции при различных температурах.
17. Метод химического определения вещества в воздухе, воде и других средах.

IV. Сведения о токсичности вещества с указанием методов исследований в соответствии с «Временными методическими указаниями к постановке экспериментальных исследований с целью установления ПДК вредных веществ в воздухе производственных помещений»:

1. Основные параметры токсичности при различных путях введения (летальность — CL_{50}, DL_{50}, частично смертельные или эффективные концентрации и дозы).
2. Способность к кумуляции.
3. Характер токсического действия в подостром опыте.
4. Действие на кожные покровы и слизистые оболочки глаз и дыхательных путей.
5. Порог запаха и раздражающего действия для человека.
6. Порог вредного действия при однократной экспозиции и однократном введении.
7. Расчет ориентировочной предельно допустимой концентрации по токсическим дозам или концентрациям.

V. Дополнительные сведения о физико-химических свойствах и токсичности данного вещества (экспериментальные и клинико-гигиенические наблюдения).

VI. Список литературы.

Полная токсикометрия

Как было указано, полная токсикометрия включает в себя, помимо сведений первичного токсикологического паспорта, проведение хронического эксперимента.

При этом вызывает много споров необходимая длительность затравок, срок последующего наблюдения, частота обследо-

Таблица 8

Условия эксперимента для заполнения первичного токсикологического паспорта (в соответствии с Временными методическими указаииями)

Название этапа работы	Вид, вес животных	Экспозиция и условия эксперимента	Показатели
I. Определение токсичности вещества CL_{16}, CL_{50}, CL_{84}, DL_{16}, DL_{50}, DL_{84} а) Ингаляция б) Введение в желудок (по показаниям)	Мыши (18—24 г) Крысы (180—240 г)	2 часа для мышей 4 часа для крыс Через 4 часа после отнятия пищи, максимально вводимый объем растворов в масле 0,2 мл на мышь Срок наблюдения 2 недели	Смертность, выживаемость, клиническая картина, макроморфология
в) Исследование кожно-резорбтивного действия (по показаниям)	Мыши, крысы или кролики	Методика изложена в настоящем руководстве	Интегральные показатели, смертельный исход, признаки интоксикации и. т. д.
II. Определение порога острого действия при ингаляции Lim_{ac}	Не менее 2 видов животных (обязательны крысы, желательны кошки);	Через 2 часа для мышей, 4 часа для крыс, кроликов и кошек после начала затравки	Интегральные показатели и одновременно специфические для веществ с известным характером действия
Примечание. Определение порога раздражающего действия Lim_{ir}	любой вид, человек (при гарантии безопасности)	При снятии показателей во время экспозиции последняя равна 40 мин. 1 мин. для человека 15 мин. для животных	
III. Определение кумуляции	Мыши (18—24 г) или крысы (180—240 г)	Общий период воздействия, как правило, приблизительно один месяц	Интегральный показатель (смертность). Методика изложена в настоящем руководстве
IV. Определение местного раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз	Мыши, крысы или кролики (1,5—2,5 кг)	Методика изложена в настоящем руководстве	

ваний животных, виды животных, выбор уровней концентраций и т. д.

Как известно, ранее хронической затравкой считали 2—3-месячный эксперимент на мелких грызунах (многие фармакологи до сих пор считают хроническим отравлением 30-дневный эксперимент, а пищевые токсикологи справедливо полагают, что длительность затравочного периода должна быть соизмерима с длительностью жизни животного 1—2 года).

С развитием промышленной токсикологии срок хронических затравок был увеличен до 6, а затем до 8—12 месяцев. Действительно, увеличение общей экспозиции позволило выявить те изменения, которые были бы скрыты при меньшем сроке воздействия. Вместе с тем осталось необоснованным применение одинаковых сроков хронической экспозиции для разных видов животных.

Наиболее логичными представляются предложения основываться при этом на общей длительности жизни каждого вида животных (Н. А. Толоконцев, И. В. Саноцкий и др.). В табл. 9 приводятся сроки жизни лабораторных животных, заимствованные из разных источников.

Таблица 9

Приблизительные сроки длительности жизни некоторых видов лабораторных животных

Вид	Длительность жизни (годы)	10% от длительности жизни (месяцы)
Белая мышь	1,5—2	2—2,5
Белая крыса	2,5—3,5	3—4
Морская свинка	6—8	7—10
Кролик	4—9	5—11
Кошка	10—12	12—14
Собака	12—20	14—24

Таким образом, если взять за основу длительности хронического эксперимента 10% от длительности жизни, а для человека это составит 7 лет — указанный срок в большинстве случаев достаточен для выявления признаков интоксикации, то наиболее экономичными видами животных будут мыши и крысы (соответственно 2 ½ и 4 месяца затравки). Первые отпадают в связи с повышенной чувствительностью к воздействию различных факторов среды (особенно к инфекциям). В качестве дополнительного вида в соответствии с Временными методическими указаниями следует выбирать кошек, однако длительность хронической затравки в этом случае должна быть увеличена. Для большего объема информации о различиях или об отсутствии различий видовой чувствительности (в последнем случае появляются бо̀льшие основания для переноса полученных данных в гигиеническую практику) — хронический опыт целесообразно ставить по возможности на различных видах животных: например, дополнять крыс или кошек морскими свинками и кроликами.

Само собой разумеется, что в опыт следует брать только половозрелых животных (мыши не менее 18 г и крысы не менее 180 г), но не молодых и не старых в связи со значительными (в ряде случаев) различиями возрастной чувствительности.

Что касается частоты обследования животных при хронической затравке, то срок ее установлен: 1 раз в месяц при тщательном обследовании до затравки. Следует при этом указать, что в начале хронического воздействия от внимания наблюдателя часто ускользает очень важная в теоретическом и практическом отношении стадия первичной декомпенсации, которая обычно наступает в первые дни воздействия и исчезает через 7—14 дней и более. Наличие стадии первичной декомпенсации при воздействии яда в определенной концентрации позволяет во многих случаях предполагать, что исследуемая концентрация близка к порогу хронического действия. Более подробно данный вопрос рассмотрен И. В. Саноцким и соавторами (1967).

Все указанное свидетельствует о целесообразности обследования животных через 1 и 2 недели после начала отравления (часто стадия компенсации наступает раньше чем через неделю — на 3—5-й день).

Срок наблюдения после затравки установлен в один месяц. Обычно этот срок достаточен для выявления стойкости или восстанавливаемости нарушений, однако в случае подозрения на развитие отдаленных последствий воздействия яда (бластомогенез, сосудистый или тканевой склероз и т. д.) срок последующего наблюдения должен быть продлен до 6 месяцев и более. В некоторых случаях применяют прием оставления животных до их «естественной гибели» с тщательным морфологическим обследованием павших особей и статистической обработкой результатов исследования.

Труден вопрос о выборе концентрации вещества для хронического эксперимента. После всестороннего анализа было решено отказаться от строго определенного уменьшения порога острого действия яда (например, уменьшения Lim_{ac} всегда в 2 или 5 раз), однако совершенно очевидно, что в обычных

случаях поиски Lim_{ch} должны вестись в зоне концентраций, расположенных ниже Lim_{ac}. Здесь учитываются аналогии с известными веществами (особенно близкими по строению), учитываются кумулятивные свойства и т. д.

Для большей уверенности в *пороговости* полученных изменений применяют не менее двух концентраций в хроническом эксперименте. Весьма желательно (если не необходимо!) устанавливать недействующую концентрацию.

Дело в том, что порог хронического действия является основным показателем для установления ориентировочной величины ПДК яда. Поскольку подобные гигиенические выводы весьма ответственны, они должны быть обоснованы как можно более тщательно, тем более что в ряде случаев они связаны с обоснованием весьма значительных материальных затрат в промышленности.

Несколько особняком стоит вопрос о полном экспериментальном обосновании ПДК веществ преимущественно фиброгенного типа действия, когда основным патологическим процессом в естественных условиях является фиброз легких.

Обосновние предельно допустимых концентраций аэрозолей фиброгенного действия

Для обоснования уровней предельно допустимого содержания аэрозолей в воздухе требуется применение различных методов исследования, так как производственная пыль отличается крайне разнообразными физико-химическими свойствами, определяющими разный характер биологического действия.

Фиброгенные аэрозоли отличаются по происхождению, составу и виду (органическая, неорганическая, смешанная пыль с подразделением на отдельные подвиды), по дисперсности, плотности и действию на организм. Они вызывают в органах дыхания фиброзные изменения разной степени. Некоторым из них присуще слабо выраженное токсическое и раздражающее действие.

Для фиброгенных аэрозолей характерно медленное проявление их действия, длительное развитие патологического процесса, хроническое течение заболевания.

К основным сведениям, необходимым для обоснования ПДК пыли и дымов в воздухе, относятся: физико-химические свойства изучаемой пыли; гигиеническая характеристика условий труда; данные о заболеваемости рабочих и данные о характере действия аэрозоля на органы в эксперименте.

В характеристике физико-химических свойств пыли указывается: химический состав, отсутствие или наличие двуокиси кремния (в свободном или связанном состоянии), ее модификация: кристаллическая, аморфная и в каком виде: кварц, кристобалит, тридимит; дисперсность пылевых частиц с пылевой формулой — относительное количество частиц: до 1 или 2 μ, от 1—2 до 5 μ, от 5 до 10 μ и более 10 μ, кроме пылей с малым удельным весом и волокнистых, для которых учитывается и больший размер частиц: 10—25 μ, 25—50 и более 50 μ; для аэрозолей конденсации — по формуле: менее 0,01 μ; 0,01—0,1 μ; 0,1—1 μ и 1—5 μ; форма частиц, способность скапливаться, окисляться, плотность пыли и, если возможно, привести данные о растворимости ее по ведущим компонентам, удельной поверхности, смачиваемости пыли, о твердости вещества, рентгенопроницаемости, адсорбционных и других свойствах.

В гигиенической характеристике условий труда освещаются вопросы промышленного применения данного вещества, способ получения его, условия образования аэрозоля, наличие в составе веществ кремнезема и примесей, обладающих токсическим действием; содержание пыли или дымов в воздухе (по весовому методу) на рабочих местах, дисперсность аэрозоля в воздухе. Условия воздействия пыли (прерывистое или постоянное) и другие неблагоприятные факторы, которые могут воздействовать на работающих одновременно с аэрозолями: пары, газы, неблагоприятные метеорологические условия, тяжесть труда и др.

При изучении з а б о л е в а е м о с т и выясняется влияние изучаемого аэрозоля на здоровье стажированных рабочих (не менее 3—5 лет), подвергавшихся воздействию изучаемой пыли — возникновение профессиональных заболеваний: пневмокониозы, бронхиты, заболевания верхних дыхательных путей, кожи, глаз и др. Следует также выяснить, при каких конкретных условиях (стаж работы, содержание пыли в воздухе, ее физико-химические свойства и др.) развиваются заболевания у работающих. При этом необходимо использовать материалы периодических медицинских осмотров с указанием числа случаев заболеваний рабочих на 100 или 1000 обследованных всех стажевых групп и отдельно по следующим группам: со стажем до 5 лет, от 6 до 10, от 11 до 15 лет и т. д. по 5-летиям и средний стаж работающих в условиях воздействия пыли, у которых впервые выявлен пневмокониоз I стадии. Материалы должны разрабатываться по профессиям и за ряд лет, с указанием количества обследованных и процента осмотренных рабочих из числа лиц, работающих в аналогичных гигиенических условиях.

Могут быть использованы материалы специальных медицинских осмотров или углубленного клинического изучения состояния здоровья рабочих, а также данные о заболеваемости рабочих с временной утратой трудоспособности. При этом желательно использование материалов углубленного изучения заболеваемости. Уровни показателей заболеваемости рабочих изучаемого производства целесообразно сопоставлять с контролем.

В случаях, когда представится возможным, анализируются результаты патологоанатомического исследования органов и тканей лиц, подвергавшихся воздействию производственной пыли и умерших от различных причин.

При характеристике влияния новых видов раздражающих пылей на глаза, кожу, дыхательные пути следует использовать методы опроса рабочих и данные обращаемости за медицинской помощью.

При изучении *характера действия* фиброгенных аэрозолей надлежит проводить исследования, позволяющие выявить влияние пыли на органы дыхания, в основном на легкие. Лучшей биологической моделью для изучения экспериментального пневмокониоза являются белые крысы. Поэтому для эксперимента следует использовать крыс в возрасте $1^1/_2$ месяцев, весом 125—150 г. Экспериментальный силикоз, развивающийся у белых крыс при однократном интратрахеальном введении 50 мг кварцевой пыли, является основой («биологическим эталоном») для сопоставления изменений, возникающих от воздействия различных видов фиброгенной пыли.

В практике экспериментального изучения пылевой патологии легких используют интратрахеальный и ингаляционный методы введения пыли лабораторным животным. Рекомендуется вначале использовать интратрахеальный метод. Для этого в трахею вводят однократно 50 мг пыли в 0,5—1 мл физиологического раствора. Для пылей с малой плотностью или обладающих слабо выраженным токсическим или раздражающим действием, а также содержащих в основном субмикроскопические частицы, рекомендуется двукратное введение их по 25 мг в 0,5 мл физиологического раствора.

Интратрахеальный метод введения пыли рекомендуется использовать для изучения веществ, близких по физико-химическим свойствам.

В ряде случаев нельзя ограничиваться интратрахеальным введением, так как исключается возможность изучения влияния пыли на верхние дыхательные пути. Учитывая медленное возникновение и хроническое течение заболевания, необходимо изучать характер действия аэрозоля с помощью ингаляционного метода. Для этого необходимо использовать камеры, в которых возможно обеспечить равномерное распределение пыли в зоне дыхания и постоянство содержания ее в подаваемом воздухе: при 4-часовой экспозиции в среднем около 200 мг/м^3 и при 3-часовой 300 мг/м^3. Продолжительность экспериментов должна быть не менее 4 месяцев.

Дисперсность аэрозоля при запылении животных в камерах и при интратрахеальном введении должна рассчитываться так, чтобы обеспечить ту дисперсную фазу аэрозоля, которая наблюдается в зоне дыхания рабочих в производственных условиях, т. е. основное количество (85—95%) вводимой пыли должно быть до 5μ; фракций более 10μ — до 0,5—2%. Более крупные размеры частиц допускаются только для волокнистой пыли. По окончании эксперимента животных забивают через сутки и через 3—6 и 9 месяцев.

В каждой серии на один вид пыли должно быть использовано не менее 20 животных при ингаляционном введении пыли и не менее 25 при интратрахеальном с соответствующей контрольной группой. На протяжении опыта у животных регистрируется вес тела 2 раза в месяц и ведется наблюдение за общим состоянием.

В развитии пылевой патологии дыхательных органов основное значение имеет количество пыли, поступившей с вдыхаемым воздухом. Суммарное отложение пыли в легких определяется прежде всего концентрацией, ежедневной экспозицией и общей продолжительностью запыления животных. Поэтому необходимо рассчитать количество пыли, введенное за время эксперимента с учетом легочной вентиляции (приблизительно 4,5—6,5 л/час) и задержки пыли в легких подопытных животных (около 50%). Однако следует всегда учитывать, что задержка пыли в легких различна в разные периоды запыления и резко колеблется в зависимости от вида пыли.

В качестве контроля количества пыли, задержанной в легких подопытных животных, забитых в тот или иной срок, можно использовать метод Stacy, King (1954) путем сопоставления расчетных максимальных и фактических концентраций и рассчитать коэффициент задержки пыли $\frac{\text{РМКП}}{\text{ФКП}}$.

Основными методами оценки изменений в органах дыхания являются патоморфологический и биохимический.

Патологоанатомические методы, применяемые в экспери-

менте на животных, дают возможность точно, а при исследовании некоторых пылей и быстро определить патогенные свойства исследуемых пылей. Критериями оценки являются: характер и степень вызываемого пылью фиброза и других изменений в легких и бифуркационных лимфатических узлах.

При изучении новых видов пыли гистологическими методами можно получить данные о сравнительной патогенности, в том числе и о фиброгенных свойствах изучаемой пыли. При этом характер действия может оказаться при одной и той же дозе введенного вещества либо тождественным, либо выявится разная степень морфологических изменений от воздействия исследуемых пылей (разная скорость развития фиброзного процесса, разная распространенность его и др.). Выявляется также характер пневмокониотического процесса — преобладание узелкового или межуточного. Степень и характер склероза особенно хорошо выявляются при применении специальных микроскопических методов исследования: окраска на коллагеновые волокна по ван Гизону, серебрение по наиболее употребительному методу Тибора—Папа — для импрегнации преколлагеновых (аргирофильных) волокон.

Эти два метода дают четкое представление о нарастании количества тех или других волокон при прогрессировании фиброзного процесса. Они с успехом могут быть использованы при определении степени фиброза в силикотических узелках по Белту и Кингу.

С помощью биохимического метода определяется коллаген по содержанию оксипролина в гидролизате легкого и содержание липидов в легких. Наиболее принятой методикой определения оксипролина является методика Neumann и Logan (1950), модифицированная Хвапилом (1960). Содержание суммарных липидов в легких определяется в сухой легочной ткани по потере веса при экстрагировании эфиром в аппарате Сокслета (Б. А. Кацнельсон, Л. Г. Бабушкина, Б. Т. Величковский, 1964).

Для более полной характеристики патогенного действия пылей у лабораторных животных можно изучать динамику изменений веса легких и особенности фагоцитоза пыли.

В заключение отметим, что при обосновании рекомендуемой ПДК возможно два варианта.

1. Для разновидностей пыли или вещества, давно известного и применяемого в промышленности.

2. Для нового вещества.

В первом случае обоснование ПДК аэрозолей производится комплексно на основе физико-химических, санитарно-гигиенических наблюдений и исследований, изучения заболеваемости рабочих соответствующего производства, экспериментальных исследований патогенности испытуемого аэрозоля по сравнению с наиболее изученными, близкими по составу видами пыли и с пылью кварца, для которой имеется «модель» экспериментального силикоза. Во втором случае для обоснования норматива нового вещества в основном используются материалы изучения физико-химических свойств и характера действия его на организм в эксперименте.

Имея как основу для нормирования указания СН 245-63, можно, исходя из всей суммы собранных данных, определить место изучаемой пыли в установленных границах допустимого содержания от 1 до 10 мг/м^3.

ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ СОДЕРЖАНИЕ ЖИВОТНЫХ

Относительная видовая чувствительность животных к ядам выяснена далеко не полно. По этому поводу существуют соответствующие обзоры литературы (Н. В. Лазарев; И. П. Уланова и др.; Г. Н. Красовский; Л. А. Тиунов и др.). В ряде случаев видовая чувствительность обусловлена физиологическими особенностями систем поглощения, распределения и выведения яда (табл. 10, 11, 12 и 13)[1]. Твердо, например, установлено, что в большинстве случаев CL_{50} для мышей при 2-часовой экспозиции близка к CL_{50} для крыс при 4-часовой экспозиции, что объясняется разным отношением объема дыхания к весу тела. Конкретные примеры использования видовых особенностей животных рассмотрены в специальных главах настоящего руководства.

Таблица 10

Некоторые видовые особенности водного обмена

Показатели	Человек	Морская свинка	Крыса
Количество мочи за сутки (мл/г)	0,02	0,061	0,038
Количество экстраренально выделенной воды за сутки (мл/г)	0,015	0,071	0,090
Водный обмен (мл/г)	0,035	0,140	0,123
Количество ренально выделенной воды (%)	56,0	46,3	27,0
Количество экстраренально выделенной воды (%)	44,0	53,7	73,0

[1] Данные литературы.

Таблица 11

Сравнительная видовая характеристика некоторых физиологических показателей

Показатель	Человек	Собака	Кошка	Кролик	Морская свинка	Крыса	Мышь
Продолжительность жизни (годы)	70	12—15**	10—15**	10—12**	7	3	3**
Вес тела (кг)	70	12	3,0	2,5	0,4	0,2	0,02
Поверхность тела ($м^2$)	1,8	0,528	0,2	0,18	0,048	0,030	0,006
Отношение поверхности к весу тела ($м^2$/кг)	0,0257	0,044	0,066	0,072	0,12	0,15	0,3
Продолжительность беременности (дни)	280	59—64	56	28—31	70—75	21—28	23—25*
Основной обмен (ккал/кг/сутки)	25	53,1	—	44,8	86	147,1	170 (хомяк)
Объем тела (л)		11,6	—	3,16	0,527	0,264	0,079

* По нашим данным, 19—21 (дни).
** Наши данные см. стр. 52.

Хотя по многим общим физиологическим показателям, к человеку ближе всего собака (данные об обезьянах не приводятся в связи с практическими трудностями их применения в эксперименте), это положение не распространяется на многие особенности метаболизма. Таким образом, по мнению большинства исследователей, только применение нескольких видов животных позволяет с бо́льшим или меньшим приближением a priori судить о возможной чувствительности человека. При этом Г. Н. Красовский полагает, что по смертельным дозам и концентрациям реактивность человека соответствует реактивности наиболее чувствительного вида животных. Л. А. Тиунов считает необходимым класть в основу сравнения видовой чувствительности сравнение метаболизма.

Помещения вивария. Практика показывает, что примерно половина общей площади вивария должна быть отведена для размещения животных, другая половина занимается складскими помещениями, дезинфекционно-моечным отделением, манипуляционной для обследования животных и др. Помещения изолятора и карантина должны быть с изолированны-

Таблица 12

Сравнительная видовая характеристика органов дыхания, внешнего газообмена и сердечно-сосудистой системы

Показатели	Человек	Собака	Кошка	Кролик	Морская свинка	Крыса	Мышь
Количество дыханий в минуту	14—18	10—30	20—30	50—100	80—135	110—135	140—210
Размер альвеол (в μ)	150	100	100	—	—	50	30
Поверхность легких м²	50	100	7,2	5,21	1,47	0,56	0,12
м²/кг	0,7	8,3	2,8	2,5	3,2	3,3	5,4
Дыхательный воздух (см³)	616	40—60	—	—	1,75	0,865	0,154
Легочная вентиляция (см³/мин)	8732	—	1000	600	155	73	25
(см³/г/мин)	0,13	—	0,30	0,29	0,33	0,65	1,24
Потребление кислорода (мл/кг/час)	203,1	—	9420	522,7	2186	2199	—
Выделение углекислого газа (мл/кг/час)	168,8	—	—	—	—	2650	—
Дыхательный коэффициент	0,82	—	—	0,83	—	0,82	—
Частота пульса	70—72	90—130	120—180	150—240	206—285	300—500	520—780
Давление крови (мм рт. ст.)	120—140	120—160	120—150	80—130	70—80	100—130	102
Время кроготока в секунду	10—16	15—18	6—7	8,0	—	(скорость кровотока, см/сек) 255	5—7

Таблнца 13

Соотношение основного обмена (ккал/кг/суткн), частоты дыхания в минуту, легочной вентиляции (см³/г/мин), отношения поверхности легких к весу тела (м²/кг) у человека н некоторых лабораторных животных

	Человек				Кролик				Морская свинка				Крыса				Мышь			
	частота дыхания	легочная вентиляция	отношение поверхности легких к весу тела	основной обмен	частота дыхания	легочная вентиляция	отношение поверхности легких к весу тела	основной обмен	частота дыхания	легочная вентиляция	отношение поверхности легких к весу тела	основной обмен	частота дыхания	легочная вентиляция	отношение поверхности легких к весу тела	основной обмен	частота дыхания	легочная вентиляция	отношение поверхности легких к весу тела	основной обмен
Человек			1		4,68	2,23	3,52	1,79	6,68	2,53	4,50	3,44	7,62	5,0	4,64	5,88	10,9	9,53	7,60	6,80
Кролик	0,21	0,44	0,28	0,55		1			1,42	1,13	1,28	1,91	1,62	2,24	1,32	3,28	2,33	4,27	2,16	3,79
Морская свинка	0,14	0,39	0,22	0,29	0,70	0,87	0,78	0,52		1			1,14	1,96	1,03	1,71	1,63	3,75	1,68	1,97
Крыса	0,13	0,20	0,21	0,16	0,61	0,44	0,75	0,30	0,87	0,50	0,96	0,58			1		1,43	1,90	1,63	1,15
Мышь	0,09	0,10	0,13	0,14	0,42	0,23	0,46	0,26	0,61	0,26	0,59	0,50	0,69	0,52	0,61	0,86		1		

ми от общего вивария входами. В набор подсобных помещений должен также входить санитарный блок для обслуживающего персонала с душевой комнатой и раздевалкой. В небольших височных указанное соотношение между производственными и подсобными помещениями смещается в сторону преобладания подсобных помещений. Количество производственных помещений зависит от планируемого числа животных, а также длительности экспериментальных исследований. Рекомендуются удлиненные по форме комнаты, в которых достигается более экономичное использование пространства с площадью 12—18 м² при ширине 2,5—3 м и длине 5—6 м с высотой 3,5—3 м. В таких комнатах меньше шума, их легче вентилировать и обслуживать. Они представляют меньшую опасность в инфекционном отношении. Полы и стены должны иметь закругленные углы для облегчения уборки и дезинфекции. Полы строят с уклоном в сторону водостоков (трапов). Водопроводные раковины должны располагаться в местах, не мешающих размещению стеллажей. Обеззараживание оборудования проводится в проходных автоклавах при 1—1,5 атм. или в проходных сухожаровых шкафах при температуре 160—180°. Проходные автоклавы или сухожаровые камеры дают возможность устанавливать грязную и чистую зоны. Текущее обеззараживание воздуха может быть достигнуто применением ртутно-кварцевых ламп (Ветеринарная лабораторная практика, 1963; И. П. Западнюк и др., 1962; К. Л. Ковалевский, 1958; У. Лейп-Петтер, 1964; Н. Н. Медведев, 1964; Ф. Эйткен, У. Уилсон, 1966).

Механизация труда. «Рассчитывать на то, что персонал вивария будет работать в таких условиях и с таким оборудованием, которое принижает уровень его развития, значит, согласиться с тем, что до тех пор, пока имеется возможность выбора работы, он будет состоять лишь из таких малоразвитых людей, для которых подобные условия работы не будут казаться унизительными» (Parkes, 1954). Использование моечных машин, которые применяются в ряде зарубежных стран, значительно повышает производительность труда. Наибольшую перспективность, по нашему мнению, будут иметь пароструйные очистители, которые с применением детергентов при мойке позволят решить и вопросы повседневной дезинфекции инвентаря. Возможна установка простых приспособлений для постоянного поения животных, а также по удалению с поддонов (бесподстилочное содержание животных полностью себя оправдало) экскрементов при использовании гидросмыва.

Вентиляция. Согласно литературным данным, рекомендуется применять кондиционированный воздух с 18-кратным обменом воздуха при движении не более 15,2 м/мин на уровне клеток (Laboratory animal care, 1963). Температура воздуха для мелких грызунов 20±2°, влажность 55±5%, ПДК аммиака 20 мг/м³ (органолептически не должно ощущаться никакого запаха). В вивариях, где вентиляция не обеспечивает требуемого обмена воздуха, снижения содержания в воздухе аммиака и других продуктов жизнедеятельности можно добиться применением торфяной подстилки или добавлением в древесные опилки суперфосфата. Как подстилочный материал необходим сфагновый торф с верховых болот, у которого разложение гиалиновых клеток не превышает 25% (последние обладают наибольшей гигроскопичностью). Торфяная подстилка является лучшей по сравнению с другим подстилочным материалом (опилки, древесные стружки и т. д.). Она наиболее влагоемка (1 кг торфяной подстилки впитывает до 12,5 кг влаги) и, что наиболее важно, обладает бактерицидным действием, способностью к химическому связыванию аммиака. Торф затрудняет деятельность бактерий, разрушающих мочевину (Н. С. Розанов, И. Ф. Усенко, 1948). С целью снижения трудоемкости работ при уборке животных некоторые авторы рекомендуют применять рулоновую бумагу, которую необходимо предварительно пропитывать специальным составом, нейтрализующим мочу лабораторных животных.

Стеллажи, клетки и другой инвентарь. С 1963 г. в виварии мы применяем комбинированные стеллажи, которые позволяют использовать клетки для разных видов животных. Стеллаж представляет собой каркас из неравнобокого уголка размером 30×20×5 мм со съемными полками и передвижными кронштейнами и имеет габаритные размеры: 1730×510×1800 мм. В стеллаже можно разместить 30 клеток для мышей или 16 для крыс, или 12 для морских свинок, или 9 клеток для кроликов (рис. 2).

Клетки прямоугольной формы с цельнометаллическим каркасом из нержавеющей стали толщиной 0,8—1 мм (марка 1×18 Н 10Т). Левая боковая и задняя стенки глухие. На правой стенке и дверце выштампованы овальные отверстия размером 8×40 мм. Бункерная кормушка съемная с вынимающейся вставкой для брикетированного корма различного диаметра. Дно и верхняя крышка сетчатые и могут при необходимости выниматься (рис. 3). Сетки из нержавеющей стали той же марки: для мышей и морских свинок № 8, для крыс № 12, с толщиной проволоки 1,2 мм. В клетке для кро-

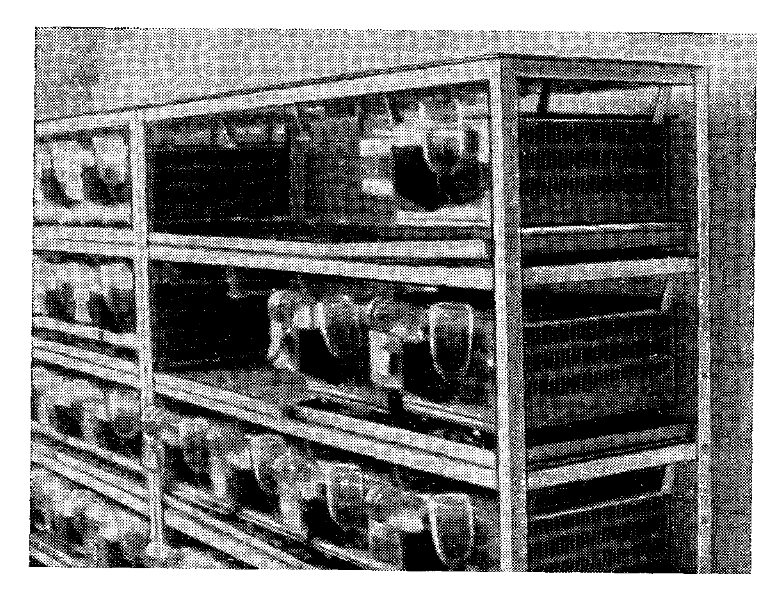


Рис. 2. Комбинированный стеллаж со съемными кронштейнами.

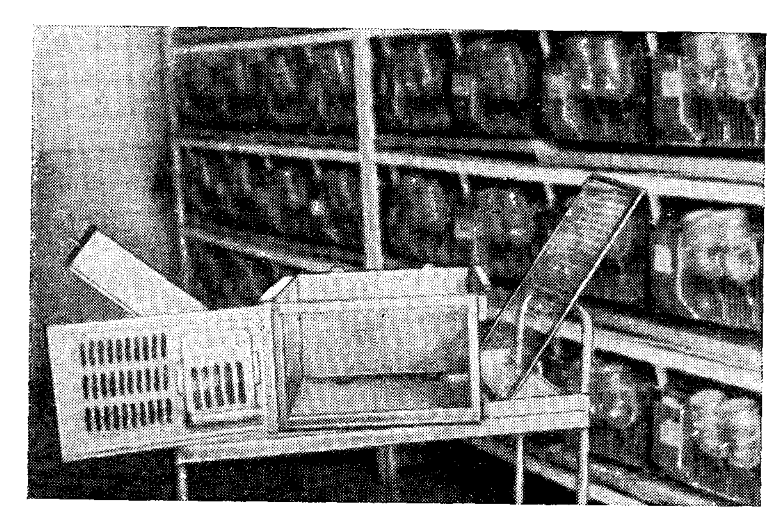


Рис. 3. Клетки из нержавеющей стали для лабораторных животных.

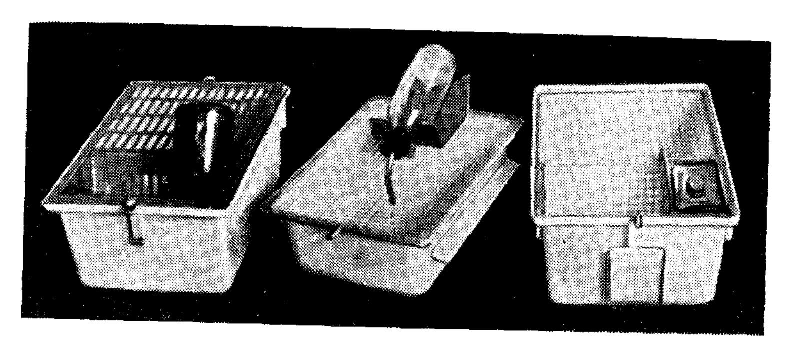


Рис. 4. Ванночки-клетки из пластмассы.



Рис. 5. Тележка для раздачи кормов.

ликов на дно необходима сетка № 12 с толщиной проволоки 2,2 мм, для верхней крышки сетка № 8. Клетки в стеллаже находятся в подвешенном состоянии на кронштейнах с изолированным от них поддоном, который устанавливается на полку стеллажа. Размеры клеток: для мышей 200×300×150 мм, для крыс 334×450×200 мм, для морских свинок 468×450×200 мм, для кроликов 468×450×300 мм. В клетках можно размещать соответственно: мышей 10—15, крыс 10—13, морских свинок 5—10, кроликов 1—2 (в зависимости от возраста). При содержании мышей и крыс в небольшом количестве, а также при инбредном разведении мелких грызунов рекомендуются ванночки из полипропилена или поликарбоната. В ближайшее время специальным производством Академии медицинских наук СССР предполагается наладить изготовление таких ванночек из ударопрочного полистирола (рис. 4). При отсутствии дозаторов для концентрированных кормов нами при раздаче брикетированных кормов применяются тележки ТП-1 (рис. 5).

Кормление мелких животных наиболее рационально брикетированным стандартным кормом, приспособленным по рецептуре и количеству к видовым особенностям. Полноценный кормовой брикет может быть изготовлен из отходов пищевой промышленности, что составляет немалую экономическую выгоду. Круглый год необходима подкормка зеленью, которую обычно выращивают методом гидропоники (Б. С. Люшков, 1966; М. Бенли, 1965). Пищевые рационы определены соответствующими приказами Министерства здравоохранения СССР.

ПОРЯДОК ЗАПИСИ РАБОЧИХ ПРОТОКОЛОВ И НЕКОТОРЫЕ ПРАВИЛА ПОСТАНОВКИ ЭКСПЕРИМЕНТА

В протоколах должны быть отражены следующие положения:

1. Цель эксперимента (название серии опытов и каждого опыта отдельно).

2. Условия эксперимента: а) время проведения эксперимента или изучения состояния отдельных показателей жизнедеятельности (час с минутами, число, месяц, год); б) подробная характеристика взятых в опыт животных (вид, вес, пол, линейность, дата получения, партия, состояние животных и др.); в) состояние внешней среды: температура, влажность давление атмосферы в помещени и т. д.; г) вид и условия затравки: скорость подачи вещества в камеру, чистого воздуха в камеру, кратность воздухообмена, температура, влажность, давление в камере в течение опыта; проводился ли подогрев вещества и какой; д) материал, длина и диаметр соединительных трубок, метод химического анализа, скорость отбора пробы и т. п.; е) регистрация концентраций веществ в воздухе затравочных камер — частота отбора проб в течение экспозиции с указанием времени отбора пробы от начала затравки. Построение кривой концентрации веществ в камере на протяжении всего затравочного периода (расчетных и фактических). Если проводится затравка другими путями, указываются дозы вещества, концентрации и pH растворов, вид растворителя, введенный объем, место введения и т. п.

3. Результаты опытов сразу же заносят в соответствующие таблицы и в последней графе таблиц по окончании опыта и 3-недельного или другого срока наблюдения вычисляются величины эффектов (например, смертность, выживаемость, длительность жизни животных и т. п.) со статистической обработкой результатов. Неправильно вначале вести запись на отдельных листах, а затем переписывать в журнал. Крайне ошибочно откладывать обработку результатов на более поздний срок.

4. Чрезвычайно важно снимать показатели попеременно у контрольных и подопытных животных, а не чередовать целые группы. Тем более не допускается исследование подопытных и контрольных в разные дни. Если трудоемкость методики не позволяет обследование всех животных в один день, то необходимо каждый день попеременно обследовать равное количество подопытных и контрольных. Само собой разумеется, что контрольные животные находятся полностью в тех же условиях, что и подопытные. Контрольных животных следует приносить во всех случаях из вивария (в камере должны поддерживаться та же температура, влажность, шум от вентилятора и т. д.). Фоновые обследования производятся главным образом для подбора однородных групп в контроль и опыт, но они не могут заменить параллельно динамических наблюдений в контрольной группе.

ИНГАЛЯЦИОННАЯ ЗАТРАВКА ЖИВОТНЫХ

Путь поступления ядов в организм через органы дыхания, как известно, в условиях производства является основным. По этой причине в лабораториях промышленной токсиколо-

гии при изучении действия тех или иных веществ главное внимание уделяется организации ингаляционных затравок животных.

Затравочные камеры общего назначения

В настоящее время в токсикологической лаборатории Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР применяются два основных типа затравочных камер: 1) так называемые «малые» камеры объемом 100 л (точнее, около 107 л), 2) большие камеры объемом 800—1200 л.

Иногда для экспертизных исследований применяются стеклянные банки (10—20 л).

Кроме того, сконструировано и построено несколько видов пылевых камер (некоторые по типу камеры, описанной В. В. Латушкиной, 1950), а также используется внекамерный способ ингаляционных затравок. Временно могут быть также использованы полиэтиленовые мешки всех размеров на металлическом каркасе.

Конструктивное решение всех камер — вертикальное, т. е. вертикальные размеры больше горизонтальных. Такая конструкция позволяет максимально использовать площадь пола затравочных комнат, а при работе с пылью — использовать силу земного притяжения для отделения крупных частиц от необходимых для затравки животных более мелких частиц пыли.

Основными медико-техническими требованиями к затравочным камерам являются следующие.

1. Камера должна легко и быстро герметизироваться.
2. Камера должна быть сделана из материалов, стойких к коррозирующим веществам и в то же время слабо адсорбирующих на своей поверхности различные пары и газы.
3. Изучаемый промышленный яд должен равномерно распределяться по всему объему камеры как при статическом, так и при динамическом режиме затравки.
4. Должна быть предусмотрена возможность размещения животных по всему объему камеры, а также удобство наблюдения за их поведением.
5. Камера должна легко проветриваться, очищаться и дегазироваться.
6. Должны быть предусмотрены отверстия для забора проб воздуха камеры с целью химического контроля концентраций и для других целей (подача вещества, проведение шлангов, проводников и т. п.).

В ряде случаев следует предусмотреть особые приспособления для введения в камеру изучаемых веществ, для размещения подопытных животных и т. д.

Наконец, в последние годы все большее внимание обращается на комплексный синтетический подход к производственной среде. Все чаще исследователей привлекает изучение совместного действия физических и химических факторов ее — в первую очередь микроклимата, который, с одной стороны, влияет на изучаемое вещество (скорость и полнота испарения, скорость гидролиза, дисперсность образующегося аэрозоля, растворения ядовитых паров в водяном тумане, величина адсорбции газов и паров на частицах аэрозоля при совместном их присутствии и др.), с другой стороны, влияет на живой организм, изменяет его реактивность по отношению к изучаемому яду. В силу сказанного особое значение придается возможности поддержания в затравочной камере строго определенного микроклимата.

Какими путями достигается выполнение изложенных выше медико-технических требований?

Быстрота и легкость герметизации затравочной камеры обеспечиваются конструкцией затвора крышки или люка камеры.

Чаще всего применяются винтовые барашковые затворы с резиновым уплотнением. От водяных и масляных затворов мы совершенно отказались. Для последних конструкций камер мы предложили использовать вместо винтов рычажные затворы, которые в настоящее время широко распространены. Это предложение дает возможность в несколько раз сократить время, необходимое для завинчивания крышек и люков. Если лаборант одновременно обслуживает несколько камер, что в нашей лаборатории обычно, выигрыш времени становится весьма ощутимым.

В связи с тем что перепад давления внутри и снаружи камеры невелик, возможна конструкция двери по типу двери холодильника с уплотнением и одним затвором.

Следует указать, что экспериментальные мастерские не всегда обеспечивают надежность герметизации при монтаже стенок камер на каркасе.

В таких случаях приходится промазывать все соединения какой-либо высококачественной замазкой (проще всего — обычным восковым пластилином), а при работе с особо опасными веществами ставить камеры под тягу (в вытяжной шкаф, под зонт, в бокс).

В последнее время изготовлено несколько образцов камер, где все стенки сделаны из металла. Для наблюдений имеются

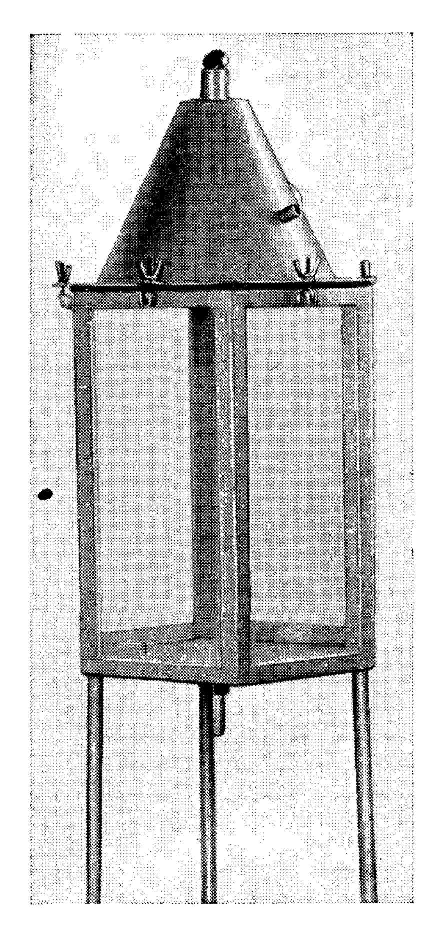


Рис. 6. 100-литровая камера.

только два небольших окна, расположенных друг против друга. Такая конструкция более герметична.

В качестве материалов для изготовления камер желательно использовать стекло и нержавеющую сталь. К сожалению, часто приходится довольствоваться обычной сталью и даже использовать для отдельных частей камер дерево. Недостатки материалов должны компенсироваться качеством покрытий. Стойкие и плохо адсорбирующие покрытия могут быть изготовлены из полихлорвиниловых или подобных лаков и красок.

Равномерное распределение изучаемых веществ внутри камеры при динамическом режиме затравки (т. е. при постоянном протекании через нее воздуха) обычно обеспечивается созданием соответствующей аэродинамической формы, т. е. приближением формы поперечного сечения камеры к кругу (для упрощения технологии обычно изготовляют шести- или восьмигранные камеры), использованием пологих входных и выходных диффузоров (рис. 6 и 7). На первый взгляд более простым способом создания равномерных концентраций вещества в камере является способ интенсивного перемешивания воздуха вентиляторами. Этот способ широко применяется при статическом режиме затравки (т. е. в случаях, когда атмосфера камеры во время экспозиции не заменяется), однако весьма часто, например при работе с аэрозолями, интенсивное размешивание вентилятором приводит к быстрому падению концентрации в камере. При изучении коррозирующих веществ последние быстро выводят из строя электропривод вентилятора (расположение электромотора вне камеры с использованием сальника усложняет конструкцию и применяется редко). Кстати следует подчеркнуть невозможность применения внутри камеры коллекторных двигателей, так как при затравке не исключено образование взрывоопасных смесей. Скорость вращения вентилятора должна была бы регулироваться, что проще всего сделать именно при использовании коллекторных электродвигателей, однако на практике реостаты и автотрансформаторы применяются редко и скорость вращения вентилятора не регулируется.

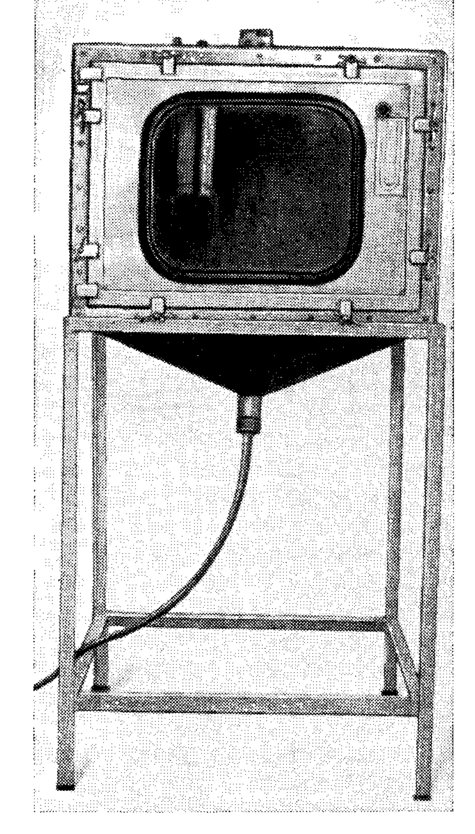


Рис. 7. 200-литровая камера Б. А. Курляндского и соавторов.

В конструкциях камер одно время пренебрегали аэродинамикой, всецело полагаясь на вентиляторы, так что типовая 100-литровая камера в настоящее время изготовляется совсем без нижнего диффузора (с горизонтальным полом), что создает немалую опасность «мертвых углов», куда вещество при затравке проникает с трудом. Некоторые типы крупных камер изготовлены без верхнего диффузора (с горизонтальной крышей). В других типах крупных камер имеются два диффузора (сверху и снизу), но они недостаточно пологи. Несколько исправляет положение металлический «конус-рассечка», укрепленный у входного отверстия для рассеивания струи входящего воздуха. Американские конструкторы применяли отсос воздуха из всех углов камеры.

Размещение животных, наблюдение за животными

Чтобы несколько сгладить недостатки конструкции, животных, как правило, размещают не на полу, а где-то в промежутке между полом и крышей — на промежуточном сетчатом полу или в маленьких клетках (лучше индивидуальных). В клетках значительно более удобны загрузка и выгрузка животных. В новых камерах устроено несколько полок для размещения животных друг над другом. Для удобства размещения животных боковая дверь устроена во всю высоту камеры. В некоторых камерах в США открываются две стенки.

Удобство наблюдения за поведением подопытных животных обычно обеспечивается изготовлением всех стенок камеры из прозрачного материала. Однако вполне удовлетворительные результаты дает конструкция, описанная выше, где все стенки ингаляционной камеры изготовлены из металла, а для наблюдений оставлены два относительно узких окна, расположенных друг против друга. В эти окна возможен осмотр всего объема камеры, особенно при применении подсвета. По данным американских авторов, общий объем животных не должен превышать 5% от объема камеры.

Проветривание, очистка и дегазация камер, с одной стороны, осуществляются путем гибкого или жесткого присоединения их к вытяжным системам для продувания (применяются также дополнительные воздуходувки различных типов), с другой стороны — широким доступом к их внутренней поверхности (съемные крышки, широкие люки). В универсальной затравочной камере, изготовленной Казанским самостоятельным конструкторско-технологическим бюро по проектированию медицинских и физиологических приборов (СКТБ-МФП), имеется, кроме того, возможность стационарного подключения к канализационной системе для прямого отвода промывной воды или дегазирующих растворов (подробное описание камеры помещено отдельно). Дегазирующие растворы специфичны для различных веществ. Чаще всего оказывается достаточным десорбировать промышленный яд путем проветривания и обмывания горячей водой с мылом или без него.

Дополнительные устройства

В современных камерах делается вполне достаточное количество отверстий для подачи вещества, отбора проб воздуха, для прокладки пневматических, гидравлических или электрических систем для регистрации функций животных.

В стандартной 100-литровой камере в крышке сделано одно большое отверстие (диаметр 40 мм) и два малых (диаметр 20 мм), одно малое расположено в полу камеры. Все отверстия имеют металлические штуцеры и для надевания шлангов или закрепления пробок.

Большие камеры обычно имеют, кроме того, несколько отверстий в люке или в боковой стенке для отбора проб на разных уровнях или для других целей.

В универсальной камере Казанского СКТБ-МФП, кроме входного и выходного трубопроводов, имеется большое отверстие на верхнем диффузоре, а также на стенке. Здесь же расположено 12 мелких отверстий со штуцерами для отбора проб воздуха или для любых других целей, имеются 6 сквозных электрических контактов и т. п.

При работе с четыреххлористым титаном мы столкнулись с явлением зависимости токсичности вещества от метеорологических условий, в данном случае — от влажности. Была смонтирована простая установка для кондиционирования воздуха в затравочной камере.

Установка состояла из добавочной стандартной 100-литровой камеры, в которую воздух подавался через силикогельный поглотитель влаги, помещенный в длинную и широкую стеклянную трубу (длина до 1,5 м, диаметр 50 мм). В камере для нагревания воздуха зажигалась мощная электрическая лампа. Если требовалось увлажнить воздух, в камеру наливали воду.

Метеорологические параметры контролировались помещенным в камеру психрометром.

Не нужно доказывать, что описанный кондиционер имел много недостатков и прежде всего необходимость непрерывного ручного регулирования заданного режима. Кроме того, в летнее время мощность поглотителя влаги была явно недостаточной и он быстро выходил из строя.

Для радикального улучшения положения с кондиционированием воздуха сформулированы медико-технические требования для изготовления универсальной затравочной камеры с возможностью поддержания определенных условий микроклимата. Было предусмотрено поддержание любой температуры воздуха от 10 до 40°, а также относительной влажности от 0,5 до 80% и более.

В настоящее время образцы такой камеры изготовлены Казанским самостоятельным конструкторско-технологическим бюро по проектированию медицинских и физиологических приборов — СКТБ-МФП.

Затравочные камеры специального назначения

Предложены также и другие специальные камеры для затравки животных легко гидролизующимися веществами. Основными требованиями к этим затравочным камерам являются следующие: 1) максимальное приближение животного к месту подачи паровоздушной смеси; 2) устранение возможности адсорбции поверхностью их тела продуктов гидролиза; 3) использование для подачи в камеру осушенного воздуха; 4) стойкость материала камер к химически агрессивным веществам; 5) возможность контроля за поведением животных.

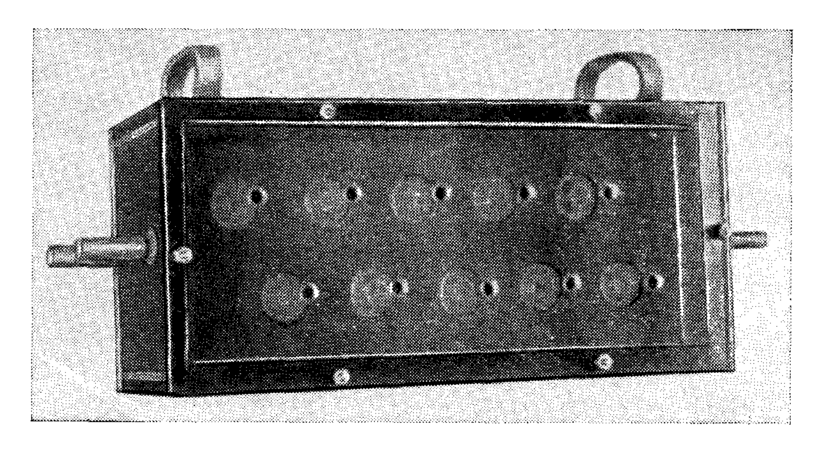


Рис. 8. Камера А. А. Голубева для мышей.

Для подобных исследований А. А. Голубев рекомендовал принцип подвода веществ к зоне дыхания отдельных животных с использованием осушенного воздуха и разработал конструкцию специальной затравочной камеры для одновременной затравки 10 мышей. Общий вид камеры представлен на рис. 8.

Передняя и задняя стенки камеры съемные, эластичные прокладки между стенками и корпусом камеры и прижимные винты обеспечивают надежную герметизацию. Животное помещают в «домик», имеющий цилиндрическую форму с отверстиями для вентиляции. «Домик» плотно вставляют в вертикальную перегородку камеры. Затравку животных производят путем подачи паровоздушной смеси в камеры через стеклянные «гребенки», которые заканчиваются внутри камеры воронками, окружающими головной конец «домика».

Равномерность распределения потока между животными достигается применением капилляров между воронкой и стеклянной трубкой гребенки, создающих равное сопротивление воздушному потоку, превышающее сопротивление самих трубок. Отсос паров воздушной смеси производится из каждой половины камеры. Для создания постоянных концентраций ве-

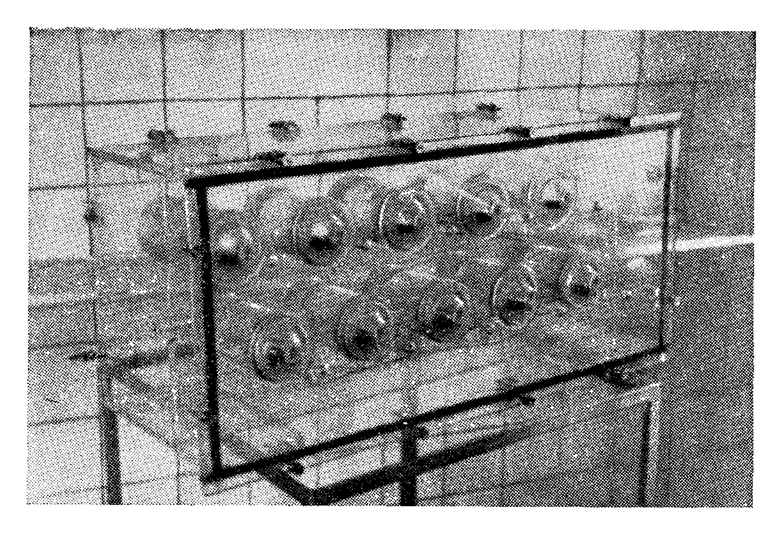


Рис. 9. Камера для индивидуальной затравки крыс, морских свинок.

ществ, легко гидролизующихся в воздухе, Н. Ш. Вольберг и А. А. Голубев (1966) применили специальную установку, основанную на принципе непрерывного дозируемого вытеснения ртутью исследуемой жидкости в испаритель и смешения образующихся паров с предварительто осушенным воздухом.

Недостатком описанного метода изучения токсичности гидролизующихся веществ является отсутствие контроля за состоянием воздушной среды непосредственно в зоне дыхания животного. Отбор проб воздушной смеси для санитарно-химического контроля производится в общем потоке воздушной смеси до распределения ее через «гребенки».

Г. Г. Максимов (1967) при изучении токсичности хлорангидрида трихлоруксусной кислоты (ХАТУ) в принцип А. А. Голубева внес некоторые методические изменения. Бы-

ла сконструирована подобная камера из органического стекла для затравки крыс и морских свинок (рис. 9), которая изготовлена в экспериментальных мастерских Института гигиены труда и профессиональных заболеваний АМН СССР.

В «домиках» для животных, укрепленных в вертикальной перегородке камеры с помощью навинчивающихся колец, имеются специальные вставные внутренние цилиндры, заменяющиеся по мере роста животного в случае проведения хронического эксперимента.

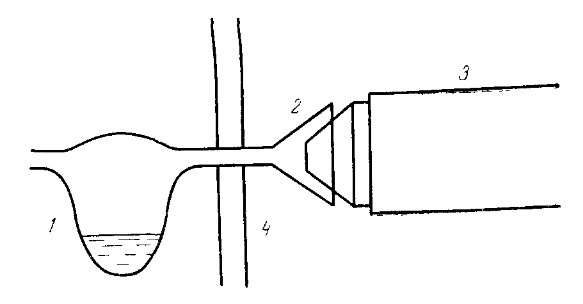


Рис. 10. Схема индивидуальной затравки легко гидролизующимися веществами.

1 — сосуд с исследуемым веществом; *2* — воронка; *3* — домик; *4* — стенка камеры.

Пути подвода паровоздушной смеси были значительно сокращены путем установления сосудов с веществом непосредственно перед зоной дыхания каждого животного (рис. 10). С целью уменьшения адсорбции влаги, выдыхаемой животными, стенками воронки, необходимо избегать прилегания ее к головной части «домика».

В рабочей установке для осушки воздуха, состоящей из ряда последовательно соединенных колонок и сосудов с силикагелем, молекулярным ситом, индикаторным силикагелем и ангидроном, в качестве окончательного этапа осушки использована способность самого продукта (ХАТУ) жадно поглощать влагу. Высокая гигроскопическая способность ХАТУ позволяет упростить этап предварительной осушки воздушного потока и значительно повысить ее качество, что крайне необходимо для сохранения чистого продукта, поступающего в зону дыхания (рис. 11). Отбор проб для санитарно-химического контроля производится непосредственно из зоны дыхания животного.

Кроме описанных камер, позволяющих изучать токсичность легко гидролизующего продукта, в лаборатории широко используются 200-литровые камеры (см. рис. 7) с массовой затравкой животных для изучения токсичности продуктов гидролиза.

Камеры изготовлены из нержавеющей стали с кислотоупорным покрытием. Горизонтальное решение ее конструкции позволяет предотвратить скопление больших количеств влаги в зоне дыхания и тем самым способствует поддержанию более постоянного состава паровоздушной смеси и уменьшает степень гидролиза. Наличие нижнего диффузора и решетчатого пола в камере в значительной мере предотвращает образование «мертвых пространств» с большой концентрацией агрессивных продуктов, вызывающих рефлекторную остановку дыхания. Использование осушенного воздуха в данном случае также необходимо как для сохранения изучаемого продукта, так и уменьшения влажности в камере.

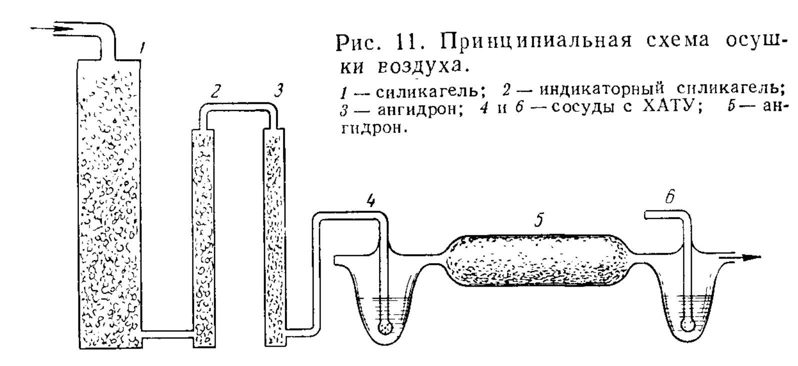


Рис. 11. Принципиальная схема осушки воздуха.

1 — силикагель; *2* — индикаторный силикагель; *3* — ангидрон; *4* и *6* — сосуды с ХАТУ; *5* — ангидрон.

Ю. А. Терехов и Е. С. Левашов (1967) предложили экранированную затравочную камеру для проведения в момент затравки животных ряда физиологических исследований, основным условием которых является устранение внешних электрических и магнитных помех. Для указанной цели авторы использовали несколько переоборудованный обычный автоклав.

Статический и динамический методы создания концентраций в затравочных камерах

Для создания определенных концентраций пара изучаемого вещества при динамическом режиме обычно применяются вертикальные и горизонтальные «гуськи». В качестве «гуська» при затравке легкогидролизующимися веществами, напри-

мер, четыреххлористым титаном, пришлось применить бутыль от газометра. Все другие приборы быстро забивались твердыми продуктами гидролиза и выходили из строя.

При затравке газами, хранящимися в сжатом состоянии в баллонах, чаще всего их предварительно переводят в газометры, а уже потом в газовые бюретки или непосредственно в камеру.

Практика работы по созданию заданных концентраций ядов при статических затравках не представляет каких-либо особенностей. Применяются все известные способы, начиная со способа нанесения жидкости на фильтровальную бумагу и кончая способом испарения веществ из растворов, налитых в чашки Петри или другие сосуды. Последний метод применим для создания стабильных низких концентраций пара высоколетучего соединения или газа.

В экспертизных исследованиях при отсутствии методов определения концентраций в атмосфере камеры, особенно в случае образования сложной смеси веществ, иногда прибегают к имитации производственных условий: измеряют, при какой температуре, влажности и скорости движения воздуха, а также с какой площади (учитывается и количество вещества) вещество испаряется в объем производственного помещения. Аналогичные условия стремятся создать в затравочной камере с целью определения степени вредности вещества при данных условиях (в обход конкретных концентраций).

Иногда необходимо в условиях статической затравки изучать действие не самого вещества, а продуктов его пиролиза. Для этого нужные количества исходного продукта сжигают, например, на плитке в сковороде. Плитку помещают в большую камеру во избежание значительного нагревания воздуха. Если проведение пиролиза необходимо при строго определенных температурах, то либо к веществу в камеру подводят термопару для контроля высоких температур, которые нельзя измерить стеклянным термометром, либо во избежание нагрева воздуха камеры, сжигание производят в термостате рядом с камерой (например, под камерой), вводя продукты пиролиза внутрь камеры через широкие и короткие соединительные трубы между сосудом для пиролиза и камерой.

В тех случаях, когда летучесть вещества низка и нужные концентрации создаются в течение длительного времени (например, в течение суток при большой поверхности испарения), целесообразно при последующих подсадках животных в камеру существенно не изменять создавшуюся концентрацию вещества. Для этой цели обычно вещество ставится на сетку в середине камеры, а внизу камеры делается маленький дополнительный люк для подсадки животных. Этот же люк может быть использован для извлечения части животных из камеры во время экспозиции без существенного изменения концентрации изучаемого вещества в атмосфере камеры. При других формах опыта животных ставят на промежуточный сетчатый пол, а вещество — например, в чашке Петри — вносят в камеру через дополнительный люк.

При исследовании действия веществ, воспламеняющихся на воздухе (например, алюминийорганических соединений), их получают с производства запаянными в ампулы в заранее предусмотренной расфасовке. При динамической затравке ампулы разбивают в сосуде, наполненном азотом. Пары вытесняются азотом в поток свежего воздуха, протекающий через камеру. При статических затравках ампулы разбивают непосредственно в камере с помощью железного стержня в небольшой ступке. Так как концентрация образующихся аэрозолей быстро падает, в камеру приходится ставить несколько ступок с несколькими ампулами, которые разбивают в необходимой последовательности.

При проведении статических затравок пользуются следующими нормами объема воздуха на одно животное в час: на мышь 1—2 л, на крысу 5 л, на морскую свинку 5—7 л, на кролика 25 л. Само собой разумеется, указанные нормы весьма приблизительны. Нужный объем определяется не только количеством кислорода для дыхания животного, но также количеством выдыхаемого углекислого газа, пара, воды, количеством газов, переходящих в атмосферу камеры из выделений животного. Концентрации их должны быть значительно ниже действующих. В связи с тем, что количества поглощаемых и выделяемых газов зависят от многих условий (возраста животных, питания, времени дня и года, погоды и т. п.), указанные выше нормы полезно увеличивать. Внешним признаком недостатка воздуха в камере является запотевание ее стенок.

Для того чтобы продлить время статической затравки, в лаборатории пользуются следующим приемом: после истечения срока, рассчитанного по объему камеры для определенного вида и количества животных, камеру проветривают, не извлекая животных. Затем сейчас же производят новую затравку при той же концентрации изучаемого вещества.

В качестве воздуходувок широкое применение нашли в лаборатории пылесосы, мелкие мембранные компрессоры (их

производительность около 30 л/мин), центробежные вентиляторы высокого давления, изготовляемые экспериментальными мастерскими Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР (благодаря высокой производительности от одного вентилятора была осуществлена разводка воздуха ко всем камерам затравочных комнат), эксцентриковые воздуходувки (в связи с высоким уровнем шума их ставят обычно в коридоре; следует иметь в виду загрязненность подающегося воздуха аэрозолем масла).

Радикальное решение вопросов воздухоснабжения и вентиляции камер возможно лишь при централизованном снабжении сжатым воздухом, а также при создании системы вакуумной вытяжной вентиляции. В настоящее время в лаборатории осуществлены указанные устройства.

Для измерения количеств подающегося воздуха широко применяются реометры и ротаметры. Необходимо применение реометра-регулятора, который поддерживал бы поток воздуха на заданном уровне при изменении режима работы воздухоснабжающей аппаратуры.

Камеры для запыления животных

Для запыления животных в лаборатории в настоящее время применяются либо обычные затравочные камеры с отдельно смонтированными распылителями различного типа, либо специальные пылевые камеры.

Пылевые камеры сконструированы по типу описанной В. Б. Латушкиной камеры, предложенной для нетоксических пылей.

Оригинальная камера Латушкиной, как известно, состоит из воздушного классификатора Гонеля (отстойника — железной трубы длиной 1 м и диаметром 10 см) и собственно камеры наверху этого классификатора. В камере расположены животные в специальных «домиках» для фиксации (по типу «домиков», описанных выше). Крышкой камеры служит свободно положенный лист органического стекла. Пыль помещают в стеклянный распылитель, установленный в нижней части классификатора Гонеля. Дисперсность и концентрацию пыли определяют предварительным измельчением, а также скоростью проходящего воздуха. Фактическая концентрация в зоне дыхания устанавливается только по расчету без химического контроля. Для сбивания пыли, осевшей на стенках отстойника, применяется деревянный молоток (ручная операция).

Оригинальная камера Латушкиной неудобна для исследования токсических пылей.

Прежде чем применить конструкцию, описанную В. Б. Латушкиной, пришлось внести в нее изменения (модификация камеры Латушкиной описана З. М. Камальдиновой и И. В. Саноцким). Прежде всего необходимо было приспособить эту пылевую камеру для химического контроля концентраций. Для этой цели вместо свободно лежащей крышки была изготовлена металлическая крышка с винтовым затвором и резиновым уплотнителем. В крышке сделано окно для освещения животных и два штуцера для отбора проб воздуха. Поглотители для химического анализа воздуха камеры могут быть расположены непосредственно в зоне дыхания животных. Оригинальный стеклянный распылитель к камере Латушкиной оказался неоправданно сложным. Он был заменен обычной стеклянной воронкой или воронкой с пористой пластинкой. Между штативом и частями камеры была проложена губчатая резина для амортизации. Деревянный молоток для сбивания пыли был заменен рычагом с электроприводом.

Таким путем было достигнуто значительное уменьшение шума. И все же описанная камера страдает рядом недостатков: трудно наблюдать за животными, помещенными в непрозрачные «домики», камера велика и требует много пыли. При работе камеры отмечается все еще высокий уровень шума, связанный с применением металлических конструкций.

При работе с аминазином Г. Н. Заева предложила камеру меньших размеров, изготовленную из органического стекла. Вместо «домиков» для фиксации животных применены прозрачные цилиндры, наглухо прикрепленные с наружной стороны в верхней части небольшого отстойника высотой около 50 см. Эта камера не имеет недостатков, описанных выше, однако не дает устойчивых концентраций пыли в зоне дыхания животных.

Более устойчивые концентрации были получены И. П. Улановой, которая добавила к верхней части камеры, предложенной Г. Н. Заевой, трубу из органического стекла того же диаметра, что и отстойники высотой около 50 см. В описанном случае образуется более или менее стабильный так называемый кипящий слой аэрозоля. Пробы воздуха отбирались из зоны дыхания животных с очень малой скоростью, чтобы не нарушать аэродинамических условий.

При исследовании небольшого количества пыли — нескольких граммов — приходится применять внекамерный способ затравки.

Внекамерный способ запыления описан Е. В. Хухриной. На морде животных (например, крыс) укрепляют стеклянную воронку, животных фиксируют. (На кафедре гигиены труда I Московского медицинского института имени И. М. Сеченова одно время крыс фиксировали путем пеленания и ставили в таком состоянии вертикально в полулитровые банки.) В воронки подается пыль из стеклянных распылителей объемом около 100 мл. После прохождения воронки, фиксированной на животном, пыль улавливается в поглотители.

Следует указать, что и фиксирование крыс путем пеленания, и надевание на их морды воронок неудобно (не говоря уже о «нефизиологичности» метода), поэтому мы предложили фиксировать крыс в стеклянных цилиндрах, сделанных по размерам животных. В передней части такого цилиндра (у морды животного) припаивают стеклянные штуцеры для введения пыли. При исследовании действия некоторых солей таллия были изготовлены маленькие распылители общим объемом до 2 мл; для отдельных крупных частиц пыли между распылителями и цилиндрами для фиксации крыс были поставлены отстойники: трубки из стекла диаметром около 2 см, высотой около 1 м. Фактические концентрации пыли определялись путем химического анализа фильтра (ватный аллонж), стоящего непосредственно за цилиндром для фиксации животных.

Для создания заданных концентраций пыли в обычных затравочных камерах в настоящее время в лаборатории в большинстве случаев применяются самые простые распылители: стеклянный распылитель, описанный Е. В. Хухриной, встряхиваемый электромотором, и распылитель Ю. Г. Широкова (рис. 12).

Распылитель, сконструированный Ю. Г. Широковым, состоит из жестяной воронки, встряхиваемой электромагнитом. В верхней части воронки протекает поток свежего воздуха, в который из нижней части воронки подбрасывается отдельным потоком воздуха нужное количество заранее приготовленной пыли. Концентрации пыли регулируют путем изменения скоростей свежего воздуха и воздуха, подбрасывающего пыль из нижней части воронки.

Для создания тумана в камере обычно пользуются ингалятором Горьковского института гигиены труда и профзаболеваний и другими подобными форсунками.

Для создания аэрозоля конденсации (дыма или тумана) используют и песочные бани. Труднолетучий порошок или жидкость (например, масла) нагревают до необходимой температуры, которая поддерживается электрической системой,

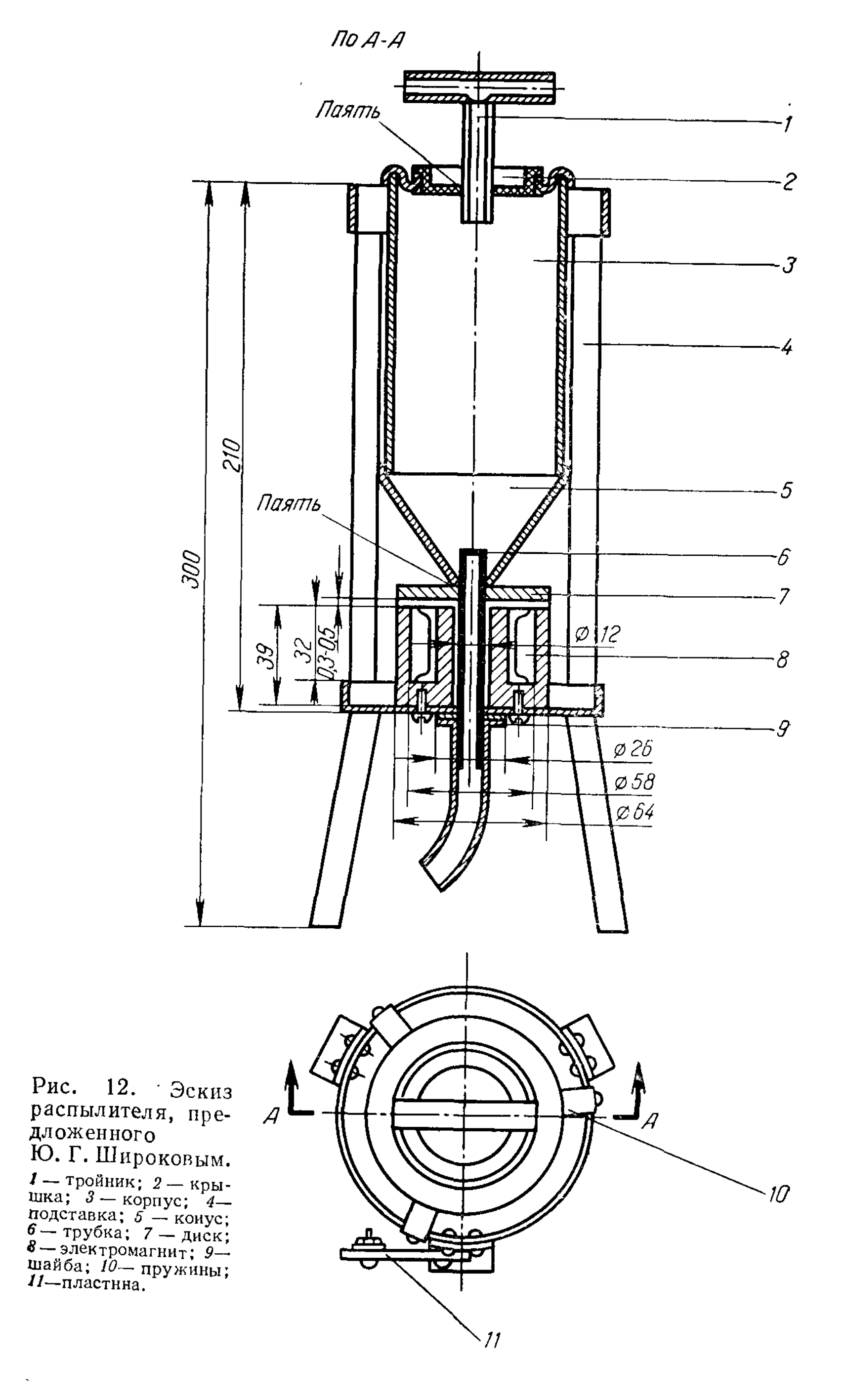


Рис. 12. Эскиз распылителя, предложенного Ю. Г. Широковым.

1 — тройник; 2 — крышка; 3 — корпус; 4— подставка; 5 — конус; 6 — трубка; 7 — диск; 8 — электромагнит; 9— шайба; 10— пружины; 11—пластнна.

состоящей из контактного термометра, реле и нагревательной плитки. Через гусек с расплавленным веществом или нагретой жидкостью продувается с подобранной заранее скоростью воздух. Соединительные шланги между гуськом и камерой с животными должны быть толстыми (внутренний диаметр 2 см) и короткими — не более 0,5 м. Концентрации аэрозолей контролируются весовым или химическим методом.

Следует указать, что применяемые нами простые распылители дают колеблющиеся концентрации пыли в камере. Иногда колебания концентраций значительны. Для регистрации указанных колебаний требуется часто производить забор проб воздуха из камеры, что не всегда удобно.

Учитывая сказанное, мы составили медико-технические требования для конструирования и изготовления специального распылителя, автоматически поддерживающего заданные концентрации пыли и регистрирующего эти концентрации. Такой распылитель изготовлен в СКТБ-МФП (Казань).

В ряде случаев бывает необходимо организовать поступление вещества в организм животных только через органы дыхания или *только* через кожу. Для этих целей предусмотрены специальные «домики» для фиксации крыс. В этих «домиках» крыс сажают внутрь камеры таким образом, чтобы морда оказалась в потоке газа. При этом исключается использование «естественного фильтра» (имеется в виду шерсть, в которую животные могут погружать нос при свободном размещении в камере).

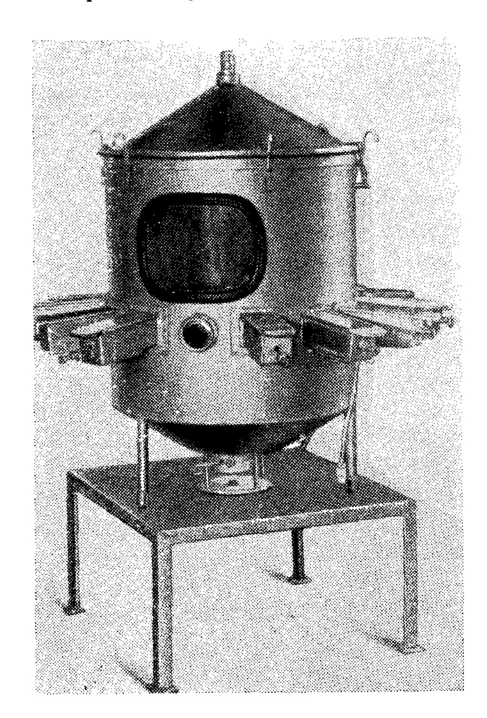


Рис. 13. Камера для запыления.

В лаборатории применяются камеры, где «домики» для фиксации крыс стационарно укреплены на стенках таким образом, что внутри камеры оказывается только морда животного. Существуют камеры для массовых затравок, по стенкам которых размещены «домики» для крыс (рис. 13). Для затравки кроликов только через органы дыхания или только через кожу изготовлена специальная камера. Кролика укрепляют на полке с поддоном для сбора выделений. Морда животного проходит через стенку камеры (внутрь или наружу — в зависимости от положения полок). Герметичность достигается применением резинового обтуратора, изготовленного из велосипедной резины с ниппелем, через который с помощью насоса накачивают воздух до необходимого давления.

Через указанный обтуратор возможно присоединение к камере и более крупных животных, например собак. Их тело может находиться снаружи или внутри камеры.

ВВЕДЕНИЕ ВЕЩЕСТВ В ЖЕЛУДОК, В ТРАХЕЮ, ПОД КОЖУ, В ВЕНУ И ДРУГИЕ ПУТИ ВВЕДЕНИЯ ЯДОВ ЛАБОРАТОРНЫМ ЖИВОТНЫМ

Степень токсичности веществ в определенной мере зависит от путей поступления их в организм. В промышленной токсикологии практическую значимость имеют дыхательный, желудочный и кожный пути, которые определяются характером технологического процесса, а также физико-химическими свойствами продуктов. Для специальных целей (механизмы действия; коэффициенты, характеризующие способность веществ проникать через кожу, и т. п.) представляют интерес также другие пути введения — под кожу, в вену и т. д. Биологический эффект вводимого вещества в значительной степени зависит от привходящих условий: концентрации раствора или взвеси, pH, вязкости и, наконец, вводимого объема.

Табл. 14, составленная на основании литературных данных (К. А. Ковалевский, 1958; Hoffmann, 1961; О. Н. Елизарова, 1962; И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, 1962; Kampmann, Frey, 1963), дает представление о максимально допустимых объемах жидкости для некоторых видов лабораторных животных при различных способах введения. В графе I указываются количества растворов в зависимости от вместимости желудка животных. В графах II, III, IV, V приводятся сведения из расчета на животных среднего веса. При повторных введениях необходимо уменьшать количество вводимых растворов до 1,5—2 % от веса тела (Ferguson, 1962; Kampmann, Frey, 1963).

Таблица 14

Максимально допустимые количества жидкости в миллилитрах для некоторых видов лабораторных животных в зависимости от пути введения

Вид животных	Вес (г)	Путь введения вещества				
		I	II	III	IV	V
		в желудок	под кожу	в мышцу	в вену	в брюшную полость
Мышь	20—24	0,5				
	25—30	0,8	1,0	0,5	0,2—0,5	1,0
	Более 30	1,0				
Крыса	100—190	3,0				
	200—240	4,0—5,0	10,5	5,0	2,0	5,0
	250—300	6,0				
	Более 300	8,0				
Морская свинка	250—300	4,0—5,0	15,0	5,0	8,0—5,0	5,0
	Более 300	6,0				
Кролик	2000—2400	100,0				
	2500—3000	150,0	30,0	15,0	20,0	20,0—30,0
	Более 3000	200,0				

Введение веществ в желудок возможно естественным путем с пищей и питьевой водой, в виде растворов, эмульсий, взвесей, в чистом виде, что определяется задачей и условиями исследования.

В практике экспериментальной промышленной токсикологии наибольшее распространение получило введение веществ непосредственно в желудок с помощью металлических или резиновых зондов[1]. Это позволяет экспериментатору быть уверенным в точной дозировке изучаемого вещества и одновременно избежать местного воздействия на слизистые оболочки ротовой полости и пищевода веществ, обладающих раздражающим действием.

Введение веществ в желудок животным производится натощак (спустя 4 часа после кормления), поскольку хорошо известно, что резорбция веществ из наполненного пищей желудка хуже, чем из пустого. Так, например, Smyth, Carpenter, Weil (1951) нашли, что разница между величинами DL_{50} у голодных и получивших перед затравкой корм крыс доходила до 30%. Кормление животных после затравки производится через несколько часов после введения препарата. Это в равной мере относится и к даче воды затравленным животным.

[1] Техника введения подробно описана в работах Ф. Р. Окишева (1932), О. Н. Елизаровой (1962), И. П. Западнюка, В. И. Западнюка, Е. А. Захария (1962) и др.

Жидкие вещества удобнее всего вводить в чистом виде. Однако, если токсичность препарата слишком высока или он обладает резкими раздражающими свойствами, следует прибегать к помощи растворителей или эмульгаторов. В особых случаях (изучение механизмов действия) с целью уменьшения местного действия соединений, обладающих кислотностью или щелочностью (pH<6 или >9), прибегают к их нейтрализации. Разумеется, такой прием допустим в отношении растворов веществ, не претерпевающих при этом химических превращений, могущих сказаться на степени токсичности.

Применение растворителей и эмульгаторов целесообразно также в случае использования вязких, смоло- и порошкообразных веществ. Эмульсии в 40—120 раз менее вязки по сравнению с чистыми маслами (И. Е. Мозгов, 1956). В качестве растворителей и эмульгаторов наиболее часто служат вода, растительные масла, 1—2% раствор крахмала, яичный желток, практически нетоксичные неионогенные поверхностноактивные вещества (эмульгаторы ОП-7, ОП-10; твины различных марок). Необходимо отметить, что исследуемые соединения желательно вводить в минимально возможных объемах растворителей. Это особенно касается масляных растворов. Большое количество масла, а вместе с ним и вещество, не всосавшись, могут быстро покидать организм (послабляющее действие). По данным Е. Г. Шариной (1964), одна и та же доза изадрина, введенная мышам в разных количествах масла, вызывала в 2—3 раза различающийся по силе эффект. В этой связи «Временные методические указания к постановке экспериментальных исследований для обоснования ПДК в воздухе производственных помещений» (1964) рекомендуют, чтобы объем вводимого мышам масла не превышал 0,2 мл.

Следует особо подчеркнуть, что при установлении диапазона смертельных доз следует вводить растворы веществ одинаковой концентрации, но в разных объемах. В то же время вводимые объемы не должны быть слишком велики (табл. 14). Griffith (1964) приводит сведения, согласно которым при определении токсичности одних и тех же веществ разными исследователями величины DL_{50} различались в 2—3 раза, частично вследствие использования различных концентраций изучаемых соединений.

К выбору растворителя или эмульгатора следует подходить с известной осторожностью. Действие некоторых ядов в мас-

ляных растворах может частично усиливаться, а в ряде случаев ослабевать (обволакивающее действие).

Mlodecki (1960) нашел, что DL_{50} паратиона для крыс в водном растворе составляла 12,9, а в растительном масле — 33,7 мг/кг.

Кислая среда желудка и щелочная кишечника значительно влияют на степень токсичности соединений. Некоторые ядовитые вещества в кислом содержимом желудка полностью или частично утрачивают свои токсические свойства. В то же время ряд веществ (соли свинца, тринитротолуол и др.) хорошо растворяются в желудочном соке, значительно лучше, чем в воде, что облегчает их дальнейшее всасывание. Подавляющее большинство веществ относительно быстро эвакуируется из желудка в кишечник, где в основном и происходит всасывание. По наблюдению П. К. Климова, А. И. Щегловой (1967), опорожнение желудка крыс от бариевой взвеси начинается в среднем на 30-й минуте и заканчивается на 105—150-й минуте после ее приема. Тонкий кишечник контрастная масса покидает через 180—300 минут. Если моторная или секреторная функция желудка в силу тех или иных причин ослаблена, эвакуация содержимого происходит медленно и организм успевает обезвредить относительно большие количества яда. Быстрота и сила действия ядов обусловлены во многом скоростью их всасывания. Относительно скорости доставки вещества к месту действия существует мнение (цит. по О. Н. Елизаровой, 1962), что если указанную скорость при введении в вену принять за 1, то при введении в желудок она составит $^1/_{20}$, под кожу — $^1/_{10}$. Однако эти соотношения сугубо ориентировочны, поскольку ряд веществ с близкими, казалось бы, физико-химическими константами имеют различную скорость всасывания.

Следует иметь в виду, что для некоторых веществ существуют специфические участки желудочно-кишечного тракта, где происходит их всасывание. Поэтому во всех случаях предсказать степень и характер всасывания пока не представляется возможным.

Из парентеральных способов введения профессиональных ядов наибольшее распространение получило введение веществ в трахею, нанесение на кожу и слизистые оболочки. В особых случаях применяют инъекции под кожу, в вену, в мышцы, в полость брюшины, иногда в спинномозговой канал или IV желудочек головного мозга.

Для выбора величины доз при переходе от одного способа введения к другому на одном и том же виде животных можно

пользоваться приводимыми И. Е. Мозговым (1956) ориентировочными соотношениями равнодействующих доз. Если за 1 принять дозу при введении в желудок, то при подкожном и внутримышечном она будет равна $^1/_3$—$^1/_2$, при внутривенном и интратрахеальном — $^1/_4$ и т. д.[1]. Однако указанные соотношения остаются справедливыми далеко не для всех веществ.

Интратрахеальный метод введения веществ чаще всего применяется при исследовании токсичности промышленных пылей. Широкое распространение получил бескровный индивидуальный способ (Е. Н. Городенская, 1951; К. С. Таргмадзе, 1958; В. А. Кривошей, 1965, и др.). Указанный способ в отличие от кровавого (вскрытие или прокол иглой трахеи) технически несложен и главное более «физиологичен». Это его свойство приобретает особую ценность в условиях повторных опытов с использованием одних и тех же животных. Помимо указанного, достигается более равномерное распределение в легочной ткани введенной пыли по сравнению с групповым игналяционным запылением животных в специальных камерах (Е. В. Хухрина, 1957).

Животному, находящемуся в стадии легкого эфирного наркоза, в трахею через ротовую полость и гортань под контролем зрения через ушную воронку среднего диаметра вводят с помощью шприца взвесь исследуемой пыли в физиологическом растворе. Применение ушной воронки и лобного рефлектора для удобства освещения операционного поля сводит до минимума возможность травмирования гортани и трахеи животного, имеющую место при слепом способе введения иглы.

Допускается однократное введение крысам весом 150—200 г не более 50 мг пыли в 0,5—1 мл физиологического раствора, а при повторных введениях до 25 мг пыли в 0,5 мл физиологического раствора [«Временные методические указания к обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) аэрозолей (пыли и дыма) фиброгенного действия», 1965]. Для количественного исследования фиброгенных свойств пылей некоторые авторы полагают более целесообразным введение ее в полость брюшины. Однако наиболее эффективным считается мезентериальное введение.

Аппликации веществ на кожу с целью изучения их местного действия производят на предварительно выстриженный учас-

[1] По нашим наблюдениям: $^1/_3$— под кожу, $^1/_5$ — в брюшную полость, $^1/_{10}$ — в вену.

ток кожи спины кролика (4×5 см) или живота крысы (2×2 см). Ежедневно наносят 4 капли продукта в течение 10—30 дней.

Подкожные инъекции мышам, крысам, морским свинкам и кроликам рекомендуется производить в область спины, живота или одного из боков, внутримышечные—в толщу мышц бедра. Под кожу и внутримышечно можно вводить водные и масляные растворы, а также суспензии и эмульсии. Выбор растворителя оказывает существенное влияние на скорость всасывания. Быстрее всего всасываются водные растворы. Полное всасывание максимально допустимых объемов в большинстве случаев происходит в течение 5 — 15 минут. Масляные растворы всасываются медленнее, оказывая пролонгированное действие. Из масел для инъекций наиболее употребляемыми являются миндальное, персиковое и абрикосовое с «кислотным числом», не превышающим 2,5. Подкожная соединительная ткань по сравнению с мышечной богата нервными окончаниями, особо чувствительными к изменению pH среды. Введение под кожу резко кислых или щелочных растворов приводит в болевому раздражению вплоть до развития шока, что, естественно, затрудняет изучение резорбтивного действия ядов. При внутримышечных инъекциях болевые явления менее выражены, в то же время всасывание веществ происходит несколько быстрее вследствие более обильного снабжения мышц кровеносными сосудами.

Внутривенное введение веществ мышам и крысам производят в боковую вену хвоста, морским свинкам — в подкожную вену голени или в вену полового члена, кроликам — в краевую вену уха, кошкам (под наркозом) — в наружную яремную вену, в наружную вену голени или бедра, собакам—в латеральную подкожную вену голени и стопы или в подкожную вену предплечья.

Перед введением для расширения сосудов хвосты мышей на 3 минуты, крыс на 5—10 минут погружают в воду температуры 40—50° или в 0,5 М[1] раствор сульфида натрия (P. M. Ronai, 1966). Сосудорасширяющий эффект от воздействия сульфида натрия сохраняется в течение суток.

При этом способе инъекций скорость введения имеет важное значение не только по причинам взаимодействия тканей с ядами, но и в связи с возможными сердечно-сосудистыми расстройствами, вызванными неожиданным увеличением объема циркулирующей жидкости. Для тождества условий введения предложен ряд приборов (Head и соавторы, 1955; Jordan, Sand, 1957; Little и соавторы, 1962; Eve, Robinson, 1963), обеспечивающих постоянную скорость инфузии вплоть до 1—0,5 мл в сутки (С. И. Ковальчук, 1964).

Внутривенно желательно вводить только водные растворы. Токсический эффект при этом развивается чрезвычайно быстро. Благодаря буферной системе крови, поддерживающей величину pH на постоянном уровне, в кровяное русло можно путем медленной внутривенной инфузии вводить растворы, pH которых колеблется от 3 до 10 (Н. А. Кудакова, 1966). Особое внимание, как известно, должно быть обращено на заполнение шприца для внутривенных инъекций: при наличии пузырьков воздуха может возникнуть воздушная эмболия.

В брюшную полость допустимо введение всех видов инъекционных растворов, а также эмульсий и взвесей. Мелким лабораторным животным, фиксированным руками в положении вниз головой, инъекцию обычно производят в правую или левую подвздошную область. Необходимость стачивания конца иглы во избежание ранения кишечника преувеличена. Мы пользуемся обычными инъекционными иглами. Внезапное исчезновение преграды при введении иглы сигнализирует о прохождении в брюшную полость. При внутрибрюшинном пути введения опасность внесения инфекции особенно велика. В случае развития явлений перитонита интерпретация данных опыта становится затруднительной.

---

[1] 10 г NaS · 9 H_2O на 100 мл воды, pH раствора 11,7.

ЧАСТЬ III. ОЦЕНКА ОСТРОГО ДЕЙСТВИЯ ЯДА И КОЭФФИЦИЕНТА КУМУЛЯЦИИ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СМЕРТЕЛЬНЫХ ДОЗ И КОНЦЕНТРАЦИЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЯХ ПОСТУПЛЕНИЯ ЯДОВ

Исследование токсичности профессиональных ядов принято начинать с острого опыта, в результате проведения которого предусматривается получение данных о смертельных дозах и концентрациях. В диапазоне смертельных доз и концентраций основным показателем токсичности вещества является наиболее статистически точная величина, вызывающая гибель 50% подопытных животных (DL_{50}, CL_{50}).

«Временные методические указания к постановке экспериментальных исследований для обоснования предельно допустимых концентраций вредных веществ в воздухе производственных помещений» (1964) рекомендуют изучение токсичности и характера действия вещества в условиях однократного воздействия на организм при естественных путях поступления: вдыхании, введении в желудок (по показаниям), нанесении на кожу и слизистые оболочки. В специальных случаях изучение токсичности веществ возможно и при других путях введения: под кожу, внутривенно, внутрибрюшинно и т. д. Однако в практике промышленной токсикологии они получили меньшее распространение.

Как правило, определение смертельных доз и концентраций проводится не менее чем на двух видах животных, «чтобы иметь возможность с бо́льшим или меньшим основанием и приближением отнести полученные данные к человеку» (Н. С. Правдин, 1947). Наиболее часто используемые животные — белые мыши и крысы. Желательно, однако, проводить исследования и на других видах животных.

В опытах на белых мышах определяется концентрация, вызывающая гибель 50% подопытных животных при экспо-

зиции 2 часа, при использовании белых крыс и животных другого вида экспозиция составляет 4 часа (отношение объема дыхания к весу тела у крыс приблизительно в 2 раза меньше).

Статическому способу затравки следует предпочесть динамический. В камере в зоне дыхания животных должен проводиться регулярный контроль реальных концентраций химическими, физическими и другими методами.

При определении среднесмертельных величин следует иметь в виду и условия внешней среды (температура, влажность воздуха, атмосферное давление и др.), но следует помнить, что «сравнительно редко изменения внешних условий влияют... на состояние яда в воздухе настолько сильно, что токсический процесс оказывается при этом резко измененным ... Гораздо чаще изменения во внешней среде влияют на ход токсического процесса вследствие того, что они вызывают ряд изменений в состоянии ... организма» (Н. В. Лазарев, 1938). На значение изменений условий внешней среды при действии профессиональных ядов неоднократно указывал Н. С. Правдин (1933). Например, с повышением температуры окружающей среды отравления ароматическими амино- и нитросоединениями увеличиваются, так как в этих условиях яд быстрее проникает через кожу.

В связи с тем что гибель животных после однократного воздействия, в зависимости от патогенеза интоксикации и примененных доз яда, может наступить в разное время, за животным ведется наблюдение, как правило, в течение 2—4 недель.

Прежде чем приступить к определению смертельных доз и концентраций, желательно знать, какими цифровыми порядками выражаются верхние параметры токсичности данного вещества. Ориентировочные сведения можно получить из литературных данных о летальных величинах веществ, близких по химическому составу к исследуемому соединению. Но даже если и имеются литературные данные о токсичности исследуемого продукта при остром воздействии, желательно начинать исследование также с острого опыта, так как «полученные при этом результаты позволяют составить представление о чистоте изучаемого образца вредного вещества и его химической устойчивости» (Г. Н. Красовский, 1965).

Для органических соединений, зная их физико-химические свойства, целесообразно провести предварительный расчет смертельных величин по эмпирическим формулам, предложенным Е. И. Люблиной (1963).

$\lg CL = -6{,}8$ П.п. $+9{,}2$ $\quad$ $\lg CL_{50} = -1{,}3\,d + 2{,}6$
$\lg CL = -1{,}7d + 1$ $\quad$ $\lg CL_{50} = -0{,}0077\,t^{\circ}$ кип. $+2{,}18$
$\lg CL = -0{,}016t^{\circ}$кип. $+1{,}1$ $\quad$ $\lg DL = -0{,}013$М.В. $+2{,}8$
$\lg CL = -0{,}024$М.В. $+1{,}8$ $\quad$ $\lg DL = -0{,}62 \lg CL + 1{,}8$

Можно также выбирать начальные концентрации при работе с органическими летучими веществами, учитывая их точку кипения по следующей шкале (Е. И. Люблина).

Точка кипения	190–156°	155–130°	129–105°	104–80°	79–55°	До 55°
Начальные концентрации (мг/л)	5	10	20	40	80	160

«Нащупывание» доз, лежащих в зоне летального действия, целесообразно проводить на ограниченном числе животных (до 3), вводя им испытуемое вещество в дозах, кратных 10 (например: 3, 30, 300, 3000 мг/кг), или в другой геометрической прогрессии (Г. Н. Першин, 1950).

Приближенное значение среднесмертельных доз или концентраций можно получить, пользуясь ориентировочными методами Van der Waerden (1940), Deichmann и Le Blanc (1943), Smyth и Carpenter (1944), Dixon и Mood (1948), Robbins и Monro (1951), Barnes (1955), Л. О. Лойт (1964) и др.

Указанные методы применяются в случае предварительной оценки токсичности, предшествующей детальному исследованию, или когда исследование носит экспертизный характер. Преимущество этих методов состоит в том, что они позволяют экономить время, животных, вещества и получать при этом достаточно точные данные.

Остановимся на наиболее простых и в связи с этим более распространенных методах.

Сущность метода Deichmann и Le Blanc (1943) заключается в следующем. Опыт проводится на ограниченном числе животных (6), причем каждую дозу вводят только одному животному. Все испытываемые дозы подбирают так, что каждая последующая отличается от предыдущей в $1\,^1/_2$ раза. За DL_{50} принимается наименьшая доза, вызвавшая летальный исход. Для получения более точного результата следует испытать еще одну дозу, которая является промежуточной между наименьшей летальной дозой и наибольшей переносимой. Практически

для определения DL_{50} по этому методу необходимо иметь всего лишь две дозы: дозу, вызвавшую летальный исход, и дозу, не вызвавшую его. Для удобства выбора доз, подлежащих испытанию, целесообразно пользоваться шкалой, составленной авторами этого метода: 0,0010; 0,0015; 0,0022, 0,0033, 0,005; 0,007; 0,01; 0,016; 0,024; 0,037; 0,055; 0,08; 0,12; 0,18; 0,28; 0,42; 0,62; 0,94; 1,4; 2,1; 3,2; 4,7; 7,1; 10,7; 16,0; 24,0; 36,0.

Пример. Ориентируясь на литературные данные о токсичности четыреххлористого углерода для крыс при внутреннем введении, была выбрана следующая шкала доз: 1400; 2100; 3200; 4700; 7100 и 10 700 мг/кг. Доза 4700 мг/кг была наименьшей, вызвавшей летальный исход. При введении дозы, промежуточной между 4700 мг/кг и 3200 мг/кг — 3950 мг/кг, ни одно животное не погибло. Доза 4700 мг/кг и была принята за DL_{50}.

В основу «теста на нахождение в ряду» (Range finding test) Smyth и Carpenter (1944), метода Dixon и Mood (1948), Robbins и Monro (1951) взят прием Deichmann и Le Blanc—введение небольшому числу животных нескольких доз и принятие за DL_{50} минимальной дозы, вызывающей летальный исход. Перечисленные выше методы отличаются от метода Deichmann и Le Blanc выбором интервала между дозами.

Так, согласно методу Dixon и Mood, сначала выбирают исходную дозу, которая выражается через логарифм. Эту дозу вводят только одному животному. Затем, смотря по тому, погибнет животное или нет, логарифм исходной дозы увеличивается или уменьшается на определенную величину. Эта новая доза испытывается на втором животном и т. д. Согласно методу Robbins и Monro (1951), дозы увеличиваются или уменьшаются не на постоянную величину, а на некоторую переменную.

К недостаткам этих методов относится то обстоятельство, что последующий опыт можно начинать только тогда, когда известен результат предыдущего опыта, что растягивает эксперимент во времени.

Способ Smyth и Carpenter (1944) предусматривает определение порядка величины однократной минимальной смертельной дозы вещества при введении в желудок, при проникновении через кожу, определение токсичности вещества при ингаляции, местного действия на кожу и раздражающего действия на слизистые оболочки. С этой целью авторы берут десятикратные разрывы между дозами и двукратные между концентрациями. За DL_{50} принимается минимальная действующая доза. Полученные результаты сравнивают со шкалой

токсичности, предварительно установленной для ряда известных веществ.

Следует иметь в виду, что указанные методы могут дать большую ошибку в связи с различной индивидуальной чувствительностью отдельных животных к ядам.

Метод одной точки описан Van der Waerden в 1940 г. Автор исходит из предположения, что если для одного вида животных прямая смертельных доз имеет определенный угол наклона, то и для другого вида животных эта прямая хотя и будет располагаться на другой шкале действующих величин, но примерно под тем же углом наклона.

Сущность указанного метода, являющегося одним из вариантов пробит-анализа, заключается в следующем. Зная величину углового коэффициента наклона прямой смертельных доз для одного вида животных к оси абсцисс, через точку, соответствующую эффекту от испытанной на другом виде животных дозе, проводят прямую, параллельную первой. После этого графически определяют величину DL_{50}.

Проведенное нами сопоставление среднесмертельных величин, определенных по этому методу, с данными развернутого опыта показало достаточное соответствие. Согласно нашим наблюдениям (А. И. Халепо, К. К. Сидоров, 1967), методом Van der Waerden можно определять не только среднесмертельные дозы, но и среднесмертельные концентрации, половую и возрастную чувствительность животных к воздействию химических веществ.

Вместе с тем следует подчеркнуть, что метод «одной точки» проверен нами только на двух видах животных одного класса (мыши и крысы).

Результат эксперимента, представленный в таком виде, является количественно вполне определенным («Рекомендации по статистической обработке результатов экспериментально-токсикологических исследований», 1965). Среднюю ошибку DL_{50} (CL_{50}) можно вычислить по предложенной Van der Waerden ориентировочной формуле, если найденная смертность не очень резко отличается от 50 %.

$$m = 1{,}25 \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

где m — средняя ошибка средней величины; σ — среднеквадратическое отклонение; n — число животных в группе.

О целесообразности применения указанного метода имеются указания в отечественной литературе (Г. Н. Красовский,

В. Е. Миклашевский, В. Н. Тугаринова, 1963; Г. Н. Красовский, 1965).

Пример. Результаты развернутого опыта по изучению токсичности бензотрифторида для белых мышей были обработаны по методу пробит-анализа Litchfield и Wilcoxon и определен угол наклона прямой доза — эффект к оси абсцисс. Для определения видовой чувствительности в опыт было взято 6 крыс, которым было введено вещество из расчета 10 000 мг/кг. Из 6 животных погибло четыре, т. е. летальность составила 66,6%. Через точку, соответствующую эффекту от испытанной на крысах дозе, проводим прямую, параллельную первой. Из точки на пересечении полученной прямой и прямой, соответствующей 50% эффекта, опускаем перпендикуляр на ось абсцисс и находим DL_{50} для крыс. DL_{50} составляет 13 000 мг/кг (рис. 14).

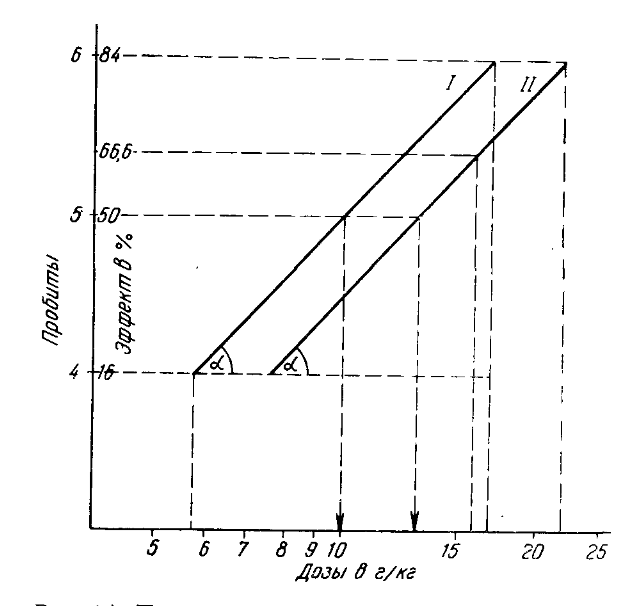


Рис. 14. Параметры токсичности бензотрифторида для белых мышей и крыс.
I — мыши; *II* — крысы.

Так как смертность (66,6 %) незначительно отличается от 50 %, то для определения средней ошибки можно пользоваться формулой Van der Waerden. Для вычисления σ использована формула Miller и Tainter (1944):

$$\sigma = \frac{DL_{84} - DL_{16}}{2}.$$

Приближенное значение средней ошибки DL_{50} для крыс равно

$$m = \frac{1,25 \cdot 6950}{\sqrt{6}} = 3545,8$$

Следовательно, DL_{50} для крыс, определенная по методу одной точки, составляет 13 000±3545,8 мг/кг. Она довольно близка к DL_{50}, определенной развернутым способом 15 000 (11 538÷19 500).

После установления ориентировочных среднесмертельных величин переходят, если этого требуют задачи исследования, к развернутому их определению. Среднесмертельные величины получают путем статистической обработки вариационного ряда смертельных доз (концентраций). Поэтому, прежде чем начать проводить эксперимент, целесообразно выбрать метод статистической обработки, так как различные методы обработки требуют соблюдения определенных условий проведения опыта.

Так, в отличие от метода интегрирования по Behrens (1929), при обработке методом пробит-анализа не требуется соблюдения одинаковых интервалов между дозами и равенства числа животных в группах, а при обработке методом Litchfield и Wilcoxon (1949) даже не обязательно получение DL_0 (CL_0) и DL_{100} (CL_{100}).

Проведение полного развернутого определения среднесмертельных доз и концентраций предусматривает соблюдение ряда условий.

Как известно, животные разных возрастных групп неодинаково реагируют на введение химических соединений (Brown, 1964; М. Ф. Савченков, 1965, и др.). Если само исследование не предусматривает получения данных о возрастной чувствительности, то в острый опыт должны браться половозрелые животные. Показателем возраста здоровых животных служит их вес. В опыт рекомендуется брать животных следующего веса: белые мыши — 18—24 г, белые крысы — 180—240 г, морские свинки—250—400 г, кролики — около 1 500 г. Колебания веса у животных в одной группе предусматриваются не более чем ±5—7 % (Г. Н. Красовский, 1965).

При выборе животных следует обращать внимание и на пол. В литературе имеется достаточно данных о различной половой чувствительности животных (Н. В. Лазарев, 1938; Frawleg и соавторы, 1952; Heimburg и Schmidt, 1959; О. Н. Елизарова, 1962, Ю. С. Каган, 1963, и др.). Например, по данным Frawleg и соавторов (1952), самки гораздо чувствительнее к фосфорорганическим соединениям, чем самцы (тиофос — DL_{50} для самок 3 мг/кг, для самцов — 30 мг/кг).

Число животных в группе при однородных показателях (в данном случае вес) должно быть не менее 6. Таких групп формируется минимум 4—5. Каждой группе животных вводят вещества в определенной дозе или подвергают воздействию газа, пара, аэрозолей изучаемого продукта в различных концентрациях.

При выборе доз или концентрации для определения смертельных величин иногда пользуются арифметической прогрессией (например: 2; 4; 6; 8; 10 и т. д.), но дозы, взятые в арифметической прогрессии, отличаются друг от друга слишком мало, чтобы выявить существенные различия по силе реакции (смертность). Г. Н. Першин (1950) считает правильнее увеличивать дозы в геометрической прогрессии и предложил пользоваться для этого рядами Фульда. Например, для групп из 10 животных подходят следующие ряды:

1,0;	1,3;	1,8;	2,4;	3,2;	4,2;	5,6;	7,5;	10,0;	13,0;	
1,0;	1,3;	1,7;	2,1;	2,8;	3,6;	4,6;	6,0;	7,7;	10,0	13,0;
1,0;	1,3;	1,6;	2,0;	2,5;	3,2;	4,0;	5,0;	6,3;	8,0;	10,0.

Однако если вещество не обладает выраженной токсичностью и не удается получить летального исхода при однократном введении максимально возможного количества вещества, то можно пользоваться следующими приемами. Через определенный интервал времени (1 1/2 часа — Г. Н. Красовский, 1965; ежедневно — О. Н. Елизарова, 1962) животным вводят максимально возможную дозу вещества, регистрируя время гибели животных и суммарное количество введенного яда.

Следует отметить, что «такой способ дробного введения нельзя считать полностью аналогичным методу с однократным введением, так как для некоторых быстровыводимых веществ токсичность будет определяться не только накапливаемой дозой, но и способностью вещества к функциональной кумуляции» (Г. Н. Красовский, 1965).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЯДОВ

Под кумуляцией принято понимать усиление действия яда при повторном его воздействии. Определение кумулятивного эффекта необходимо для правильного выбора коэффициента запаса при установлении предельно допустимых величин вредных веществ во внешней среде, поскольку процессы кумуля-

ции лежат в основе хронического отравления. Сопоставление коэффициентов кумуляции различных веществ предусматривает соблюдение одинаковых условий проведения опыта (величины вводимой дозы в частях или процентах от однократной DE_{50} либо DL_{50}; срока, режима и пути введения; вида и пола подопытных животных и т. п.), а также выбора приема количественного выражения кумулятивного процесса.

Условия проведения исследований по выявлению кумулятивного действия

Величина вводимой дозы, являющаяся одним из узловых моментов, по литературным рекомендациям колеблется в довольно широком интервале — от $\frac{1}{5}$ до $\frac{1}{100}$ DL_{50}.

Само собой разумеется, что коэффициент кумуляции на разных уровнях дробности (при прочих равных условиях) будет различным. Это создает затруднения при сравнительной количественной оценке эффекта кумуляции, избежать которые можно, выбрав единую величину дробности. Такой величиной, по нашему мнению, могла бы быть $\frac{1}{10}$ от DL_{50}, поскольку для целого ряда химических веществ она близка к пороговой (Н. С. Правдин, цит. по О. Н. Елизаровой, 1962) или к терапевтической (И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, 1962, и др.) дозе. Знания же количественной выраженности кумуляции на низких, близких к пороговым уровнях очень важны для гигиенических целей нормирования веществ в окружающей среде.

Режим введения яда животным и сроки проведения опыта тесно связаны между собой. Возможны самые различные варианты режимов. С одной стороны, ежедневное введение, введение через несколько часов, дней и т. д., с другой — введение постоянной дозы, дозы, ступенчато повышающейся и т. д. С целью разумного сокращения общих сроков исследования целесообразно рекомендовать введение изучаемого продукта каждый день или 5 дней в неделю, постепенно повышая дозу. Это позволит одновременно выявить не только кумулятивное действие, но и возможность привыкания. В то же время даже при таком подходе продолжительность подострого опыта должна быть регламентирована. По аналогии с предложением Н. А. Толоконцева (1963) об избрании $\frac{1}{10}$ от средней продолжительности жизни используемого вида подопытных животных за срок проведения хронического эксперимента мы считаем возможным для подострого воздействия выбрать из имеющихся в литературе указаний $\frac{1}{30}$ от продолжительности жизни животных. Для наиболее часто используемых видов это составляет (в месяцах): для мышей $\frac{1}{30} \cdot (18—24) = 0{,}6—0{,}8$, для крыс $\frac{1}{30} \cdot (24—30) = 0{,}8 — 1{,}0$.

Сроки жизни животных приводятся по данным К. Л. Ковалевского (1958) и О. Н. Елизаровой (1962).

Путь введения. При всем разнообразии возможных путей введения (в желудок, в мышцу, под кожу, на кожу и т. д.) соединения, подлежащего изучению, желательно избрать один обязательный для большинства исследований. Наиболее доступный и имеющий практическую значимость — это оральный путь, который и следует рекомендовать при воспроизведении модели кумуляции токсического действия химических промышленных веществ. Вопрос об использовании дополнительных путей следует решать в каждом случае, исходя из задач, стоящих перед исследователем.

Пол и вид экспериментальных животных. Принимая во внимание различия в видовой и половой чувствительности лабораторных животных, соблюдение этого условия при выявлении различий в степени кумуляции разных веществ имеет немаловажное значение. Изучение токсичности соединения в условиях подострого опыта желательно проводить на том же виде животных, на котором предполагается проведение хронического эксперимента. Однако нередко, в силу тех или иных обстоятельств, смертельные дозы при остром воздействии отрабатываются на мышах, а подострый и хронический опыты, как правило, ставятся на крысах. Для выбора доз при переходе с мышей на крыс, и наоборот, применение метода «одной точки» Van der Waerden (1940) дает обнадеживающие результаты (И.П. Уланова, К.К. Сидоров, А.И. Халепо, 1966).

Нами были рассмотрены основные условия, унификация которых, на наш взгляд, необходима при проведении исследований по выявлению кумулятивного эффекта. Этим требованиям из существующих методов изучения кумулятивных свойств химических веществ (Fraenkel, 1904; Hatcher, 1910; Lendle, 1936; Druckrey, 1957; Н. С. Правдин, 1947; Л. Ф. Ларионов, В. А. Гришко, 1963; Ю. С. Каган, В. В. Станкевич, 1964, и др.) наиболее удовлетворяет тест «субхронической токсичности» (Lim, Rink, Glass, Soaje-Echague, 1961). Ука-

занный метод ставит своей целью как выяснение наличия кумулятивных свойств, так и возможности развития привыкания.

Тест проводится в течение 24±4 дней, причем для выявления кумулятивного эффекта требуется около недели. Первоначальная ежедневная доза, составляющая 0,1 от ранее установленной однократной DL_{50}, вводится в первые 4 дня. На 5-е сутки дозу повышают в $1\,^1/_2$ раза и вводят в последующие 4 дня и т. д. Оценка результатов исследования проводится по отношению средних эффективных доз (DE_{50}, DL_{50}) острого и подострого действия. Следует учесть, что по указанному методу коэффициент меньше 1 свидетельствует о наличии кумулятивных свойств и больше 1 — о развитии повышенной курезистентности к изучаемым веществам.

Другие методы и способы выявления кумуляции по Druckrey (1957), Л. Ф. Ларионову и В. А. Гришко (1963) только за первые 24 часа не дают полного и правильного представления о кумулятивных свойствах изучаемых веществ, так как при повторном воздействии малых доз можно ожидать изменения силы и даже характера действия вводимых соединений. О недостаточной точности такого критерия, как DL_0, будет указано ниже. Помимо этого, методы Druckrey, Л. Ф. Ларионова и В. А. Гришко нуждаются для своего выполнения в большом количестве животных. Указанные недостатки присущи также методам Fraenkel (1904), Hatcher (1910), Lendle (1936), предложенным в свое время для выявления кумулятивных свойств сердечных глюкозидов.

По методике Н. С. Правдина [схема проведения опытов дана в диссертациях Н. К. Кулагиной (1947), А. И. Корбаковой (1952) и др., выполненных под его руководством] для выявления кумуляции требуется в течение 14—30 суток воздействие вещества в концентрациях, близких к $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ от CL_{50}. По истечении указанного срока животные экспонируются при ранее установленной CL_{50}. Наличие кумуляции у изучаемого вещества скажется в увеличении числа погибших животных по сравнению с контролем. Уменьшение количества погибших животных свидетельствует о развитии так называемого привыкания. Метод Н. С. Правдина в своей постановке в значительной мере учитывает реальные условия развития хронического отравления, однако не позволяет вычислить коэффициент кумуляции.

Метод Ю. С Кагана (1964, 1965), широко распространенный в промышленной токсикологии, предусматривает одновременное применение разной дробности доз ($^1/_5$ — $^1/_{100}\,DL_{50}$)

и не ограничивает длительность эксперимента. Кроме того, числовое значение коэффициента в данном случае обратно пропорционально интенсивности процесса, что неудобно в обращении. Вместе с тем метод Ю. С. Кагана позволяет определить критическую дозу, что имеет принципиальное значение для промышленной токсикологии. Однако для прикладных целей при изучении кумулятивных свойств химических веществ наиболее приемлем, по нашему мнению, метод Lim и соавторов (1961), который дает экономию времени при проведении эксперимента (К. К. Сидоров, 1967).

Выбор способа количественного выражения кумулятивного процесса. Стремление экспериментаторов количественно охарактеризовать качественные изменения в организме при кумуляции токсического действия химических веществ выразилось в использовании в качестве критерия коэффициента кумуляции — отношения суммарной дозы, вызывающей определенный эффект при дробном введении ее, к величине дозы, оказывающей тот же эффект при однократном воздействии. Но даже при таком подходе сопоставление кумулятивного эффекта в ряде случаев представляется затруднительным в связи с различиями в способах его количественного выражения. Для вычисления коэффициента кумуляции предложен ряд расчетных формул: В. А. Чернов (1960)—формула 1, В. А. Чернов, А. А. Грушина, Л. Г. Лыткина (1963) — формула 2, В. Н. Саляев (1963) — формула 3, Г. Л. Жданов (1960) — формула 4, С. Н. Черкинский, Г. Н. Красовский, В. Н. Тугаринова (1964) — формула 5, Ю. С. Каган, В. В. Станкевич (1964) — формула 6[1].

$$\frac{100\cdot DL_{0_1}}{DL_{0_n}\cdot n} \quad (1) \qquad \frac{DL_{50_1}}{DL_{0_n}} \quad (4)$$

$$\frac{100\cdot(DL_{0_1}-DL_{0_n})}{DL_{0_n}\cdot(n-1)} \quad (2) \qquad \frac{D\sqrt{k}}{DL_{50_1}\cdot p}\cdot\frac{50}{a} \quad (5)$$

$$\frac{100\cdot(DL_{100_1}-DL_{100_n})}{DL_{100_n}\cdot(n-1)} \quad (3) \qquad \frac{DL_{50_n}\cdot(DE_{50_n})}{DL_{50_1}\ (DE_{50_1})} \quad (6),$$

где DL_{0_1}, DL_{0_n} — максимально переносимые дозы при однократном и n-кратном введении;

[1] Некоторые обозначения в оригинальных формулах изменены с тем, чтобы придать им единый вид.

DE_{50_1}, DE_{50_n} — средние эффективные дозы при однократном и n-кратном введении;
DL_{50_1}, DL_{50_n} — средние летальные дозы при однократном и n-кратном введении;
DL_{100_1}, DL_{100_n} — абсолютно летальные дозы при однократном и n-кратном введении;
D_k — суммарная доза, полученная погибшими и выжившими животными;
p — количество животных, взятых в опыт;
a — гибель животных в процентах;
n — количество введений.

Остановимся на анализе расчета коэффициента кумуляции по приведенным формулам. Критическое отношение к формулам 1, 2, 3, 4 диктуется введением в них таких величин, как DL_0 и DL_{100}. Общепринято считать, что величины DL_0 и DL_{100} не являются в достаточной мере определенными и не дают полного представления о токсических свойствах изучаемого вещества, поскольку при увеличении количества наблюдений за счет индивидуальной чувствительности подопытных животных DL_0 имеет тенденцию к снижению, а DL_{100}, наоборот, к возрастанию (Gray, Trewan, Bainbridge, Attowood, 1931; Ш. Д. Мошковский, 1936; М. Л. Беленький, 1959; Н. А. Толоконцев, 1964, и др.). Наибольшую значимость в связи с изложенным имеет статистически достаточно точная величина DL_{50}, так как «в ней дается скидка на особо резистентных и особо чувствительных животных, которые в данном случае не принимаются во внимание» (Н. С. Правдин, 1947). Возможность получения коэффициента кумуляции, согласно формуле 2, равным нулю или с отрицательным знаком, вовсе не исключает наличия кумуляции. Это в равной мере относится и к формуле 3. Кроме того, расчет коэффициента кумуляции по формуле 3 возможен не для всех веществ, так как абсолютно смертельная доза для ряда соединений практически трудно достижима, что, однако, не может служить основанием для отрицания возможности изучения их кумулятивных свойств.

Применение эмпирической формулы 5 лимитируется, так как, по мнению авторов, предложивших ее, она «пригодна для расчета результатов опыта, проведенного при сроке наблюдения 20 дней и числе животных, взятых в опыт, равном 10» (С. Н. Черкинский и соавторы, 1964). Более объемную информацию можно получить, используя в качестве критериев кумуляции два показателя—DL_{50} и S— величину наклона

прямой, выражающую зависимость наблюдавшегося эффекта от действующих доз, к положительному значению оси абсцисс. К сожалению, величина наклона смертельной прямой как источник получения дополнительной информации о токсических свойствах веществ сравнительно редко применяется в экспериментальных работах. Вслед за Dimond, Horsfall, Heuberger, Stoddart (1941), Turner (1943) Д. Г. Хорсфолл (1948) считают возможным устанавливать различия между препаратами по наклонам прямых, особенно в случае их пересечения при одинаковых значениях DL_{50}. Д. Г. Хорсфолл указывает, что «DL_{50} дает лишь статистическую картину. Наклон кривой дает динамическую картину». По мнению В. М. Карасика (1944), В. Б. Прозоровского (1960), по наклону эффективной прямой острого опыта можно судить о механизме процесса интоксикации.

Нам представляется, что величина наклона прямой летальных доз подострого опыта также позволяет по однозначному для большинства соединений показателю судить в какой-то мере как о характере, так и о степени кумулятивного процесса. Чем круче прямая, тем при прочих равных условиях кумулятивнее препарат, тем слабее адаптационно-компенсаторные процессы организма, и наоборот. О таком выборе свидетельствует и тот факт, что величина S не зависит от масштабов шкал на осях координат и по этой причине является вполне объективным критерием. Кроме того, применение некоторых способов расчета среднесмертельных доз (В. Б. Прозоровский, 1962; Syn Ray, 1963, и др.) позволяет отказаться от использования графика «доза—эффект», что упрощает вычисление величины наклона прямой эффекта к оси абсцисс. Между тем, если оценивать кумулятивную способность различных веществ только по углу наклона или его тангенсу и т. п. без учета DL_{50}, то можно впасть в ошибку: при близких величинах наклонов в условиях однократного и повторного воздействия прямая подострого опыта может быть значительно сдвинута по шкале действующих доз. Это положение в равной мере относится и к отношению $\frac{DL_{84}}{DL_{16}}$ и величине S. В связи с изложенным представляется, что оба выше упомянутых показателя (DL_{50} и величина наклона) должны быть объединены в одну формулу.

Интегральный коэффициент $\frac{1}{DL_{50}} \cdot \text{tg}\,\alpha$ (Ю. С. Каган, 1965) из-за различий в величинах тангенса угла при различных приемах и даже модификациях одного и того же способа вы-

числения DL_{50} не может быть широко рекомендован.

Мы считаем целесообразным для количественной характеристики кумулятивного действия пользоваться отношением:

$$\frac{1}{DL_{50_n} \cdot S_n} : \frac{1}{DL_{50} \cdot S_1}$$

или в упрощенном виде $\frac{DL_{50_1} \cdot S_1}{DL_{50_n} \cdot S_n}$,

где DL_{50_1} и DL_{50_n} — среднелетальные дозы при однократном и n-кратном введении;

S_1 и S_n — функция угла наклона прямой смертельных доз к оси абсцисс при однократном и n-кратном введении.

При этом количественная выраженность кумулятивного процесса в отличие от формулы Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича (1964), на логическое противоречие которой есть указания у И. В. Саноцкого (1964), прямо пропорциональна цифровому значению предлагаемого коэффициента. Чем больше величина коэффициента, тем выраженнее кумулятивные свойства исследуемого соединения. Коэффициент меньше 1 указывает на развитие так называемого привыкания.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ КОЖНО-РЕЗОРБТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

В производственных условиях после ингаляционного пути наиболее важное значение имеет проникание ядов через кожу. Для некоторых химических веществ этот путь имеет первостепенное значение.

Н. В. Лазарев, Rothman и др. установили, что практическая опасность отравлений через кожу имеет место при работе с веществами, обладающими высокой растворимостью в жирах и липоидах в сочетании с некоторой растворимостью в воде, значительной вязкостью и способностью вызывать отравление при попадании в организм в небольших количествах, т. е. высокой токсичностью. При оценке возможной роли кожного пути поступления веществ в организм необходимо учитывать их летучесть. Для высоколетучих соединений кожа как путь поступления имеет сравнительно меньшее значение, так как в этих случаях опасность отравления через легкие

становится неизмеримо большей. Однако при определенных производственных ситуациях (работа в условиях высокой концентрации яда с использованием индивидуальных средств защиты органов дыхания) и летучие яды могут вызвать отравление через кожу.

Поэтому все новые вещества, особенно если они представляют собой малолетучие жидкости, подлежат специальному изучению с целью определения степени опасности отравлений при попадании их на кожу.

В качестве подопытных животных используются белые мыши, крысы, морские свинки, кролики, кошки. Следует, однако, иметь в виду, что кожа этих лабораторных животных по структуре и функциям существенно отличается от кожи человека. По мнению Stejskal (1928) и др., кожа человека из-за большей толщины рогового слоя и всего эпидермиса, большей длины и извилистости выводных протоков желез менее проницаема по сравнению с кожей большинства видов лабораторных животных. По проницаемости к коже человека приближается лишь кожа молочных поросят (Tregear, 1961). Однако этот вид животных редко используется в практике токсикологических лабораторий. Все же многие исследователи подчеркивают, что для установления факта: всасывается через кожу яд в эффективных количествах или нет, выгоднее использовать мелких лабораторных животных, так как у них отношение поверхности тела к объему является наибольшим.

Исследование кожно-резорбтивного действия нового вещества обычно проводится в несколько этапов.

Первым этапом является первичная оценка. Для этого могут быть использованы мыши или крысы. За день до опыта хвост животного тщательно моют теплой водой с мылом с тем, чтобы устранить с поверхности струпья и грязь. В день опыта животное привязывают к дощечке или фиксируют в специальном станке (рис. 15), а хвост вводят на $^2/_3$ в обычную пробирку с исследуемой жидкостью. Пробирку закрывают пробковым кольцом. Внутренний диаметр пробкового кольца должен быть несколько бóльшим, чем диаметр хвоста. Остающийся просвет можно закрыть парафином, размягченной менделеевской замазкой, пластилином или другим способом. При этом важно следить за тем, чтобы хвост не был сдавлен.

Для исключения вдыхания паров вещества животное соответствующим образом помещают под вытяжку, опуская дверцу шкафа на штатив; при этом в вытяжном шкафу должен находиться лишь хвост животного, погруженный в пробирку с исследуемым веществом. В том же штативе и в тех

же условиях должны находиться и контрольные животные с хвостами, опущенными в воду.

Пробирки желательно помещать в водяную баню температуры 28—30°. Если изучается кожно-резорбтивное действие твердого вещества, то его необходимо предварительно растворить в воде или в растительном масле. Из веществ, плохо

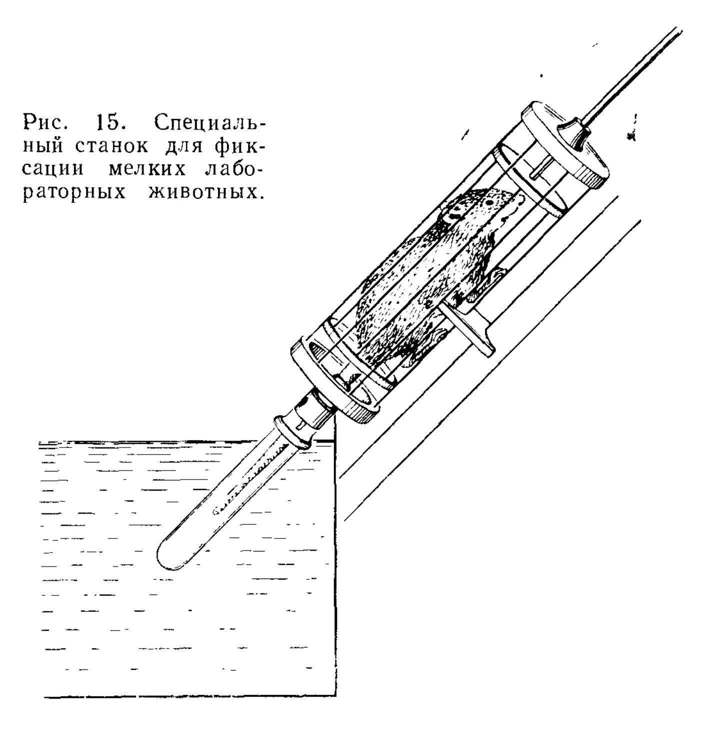


Рис. 15. Специальный станок для фиксации мелких лабораторных животных.

растворимых в воде, можно приготовить концентрированные мази на свином сале или ланолине. По истечении экспозиции (обычно не более 4—6 часов) кожу хвоста необходимо тщательно вымыть до полного удаления остатков вещества в проточной воде и таким образом предотвратить возможность слизывания.

В качестве критерия кожно-резорбтивного действия можно использовать любой токсический эффект, вызываемый исследуемым веществом (смертельный исход, время появления и степень выраженности признаков интоксикации и др.). Здесь, как и всюду, желательно использовать объективные показатели.

В случае отсутствия токсического действия вещества при однократном воздействии следует провести опыты с повторными аппликациями на протяжении 7—10 дней.

Для первичной оценки можно использовать и другие методы аппликации. Можно, например, наносить вещество на участок кожи, освобожденный от шерсти.

Главная задача первого этапа исследования установить, способно или не способно вещество проникать через неповрежденную кожу и вызывать токсический эффект при поступлении в организм этим путем. Если на указанной стадии исследования не выявлено кожно-резорбтивного действия вещества, то необходимости в дальнейших исследованиях нет. Исследователь имееет основание сделать вывод об отсутствии токсического действия изучаемого вещества при аппликации его на кожу. В том случае, если проникание через кожу выявлено, исследования необходимо продолжить, чтобы дать количественную оценку токсичности вещества при всасывании через кожу.

Исследования на втором этапе также могут быть проведены на мелких лабораторных животных (крысы).

За день до опыта у животного на избранном месте аппликации необходимо удалить шерсть. Это может быть сделано с помощью нанесения депилятория, бритья или стрижки. В последнее время депилятории в практике токсикологических лабораторий используются сравнительно редко, так как они могут существенно изменять проницаемость кожи. Бритье, в том числе и электрической бритвой, раздражает кожу и может травмировать ее. Наиболее приемлемым способом удаления шерсти является тщательная стрижка ножницами. На следующий день на подготовленный участок кожи животного заранее определенной площади (крысы 2×2 см, кролики, кошки 4×6 см) наносят исследуемое вещество.

Для высокотоксичных веществ площадь нанесения может быть значительно уменьшена, а для малотоксичных соответственно увеличена. Важно, чтобы в дальнейших исследованиях она была строго постоянной. При изучении ряда химических веществ для получения сопоставимых данных также необходимо придерживаться одного и того же размера площади аппликации.

Ю. И. Кундиев с целью выявления зависимости токсического эффекта некоторых фосфорорганических соединений (0,0-диэтил-s-β-этил-меркапто-этилдитиофосфата, его сульфоксида и сульфона) от величины площади аппликации в опытах на крысах установил DL_{50} и их доверительные границы

при нанесении указанных веществ на площади 0,8, 4 и 8 см² (рис. 16). Из приведенного графика видно, как резко увеличивается токсический эффект (DL_{50} уменьшается) с увеличением площади аппликации.

Если площадь нанесения мала и при этом трудно избежать растекания жидкости за пределы избранного участка, необходимы меры для его ограничения. В этих случаях удобно на кожу животного при помощи клея БФ-2 или клеола приклеивать стеклянный открытый с обеих сторон цилиндр с заранее измеренным диаметром (рис. 17), куда вносят с помощью шприца определенное количество вещества, покрывающее участок кожи равномерно тонким слоем. Использование стеклянных цилиндров или колпачков также необходимо, когда изучается летучее вещество. В этих случаях цилиндр после внесения в него вещества закрывают пробкой; жидкость лучше наносить per se, а твердые вещества — в концентрированных растворах или мазях.

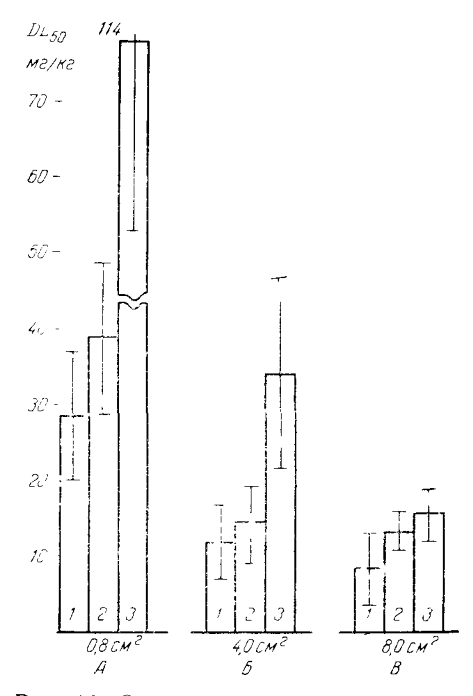


Рис. 16. Зависимость токсического эффекта 0,0-диэтил-s-β-этил-меркаптоэтилдитиофосфата, его сульфоксида и сульфона при нанесении их на кожу от величины площади аппликации.

А — площадь аппликации 0,8 см²; *Б* — площадь аппликации 4 см²; *В* — площадь аппликации 8 см². *1* — 0,0-диэтил-s-β-этил-меркапто-этилдитиофосфат; *2* — его сульфоксид; *3* — его сульфон.

Во всех случаях необходимо обеспечить полное всасывание наносимого вещества. В связи с этим не следует смывать вещество с кожи, накладывать повязку, если это не вызвано специальными целями опыта, так как нарушается точность дозировки.

Для веществ, вызывающих гибель подопытных животных, избирают такие дозы для аппликации, чтобы в дальнейшем

можно было установить DL_{50}. Определяются также пороговая доза и ее доверительные границы. Однако это не единственные критерии токсичности вещества. И. В. Саноцкий, Г. Н. Заева, В. В. Станкевич и др. использовали для количественной оценки токсичности веществ при аппликации на кожу время, в течение которого всасывается та или иная доза яда, вызывающая определенный токсический эффект (переход животного в боковое положение, гибель и пр.). Определяется время контакта яда с кожей, в течение которого наблюдается, например, 50 % гибели животных. Соответствующей обработкой устанавливается Et_{50}.

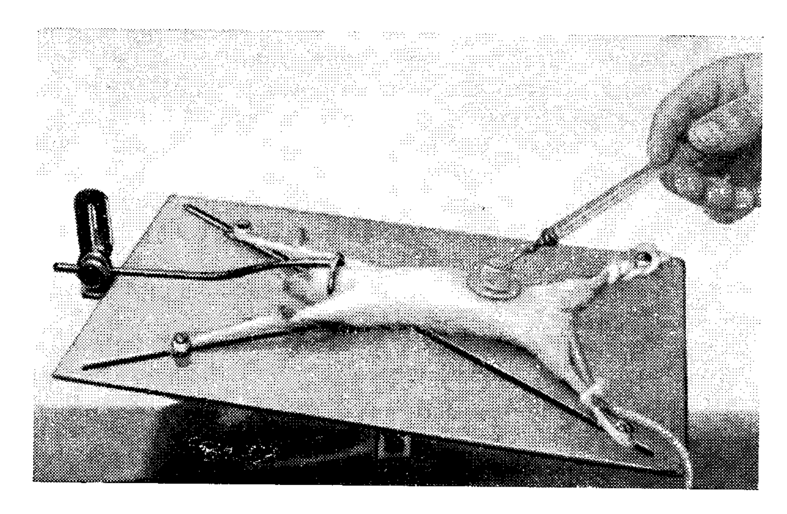


Рис. 17. Ограничение площади аппликации при помощи стеклянного цилиндра, приклеенного к коже крысы.

Нередко основное вещество в производственных условиях используется совместно с растворителями, наполнителями, эмульгаторами и другими вспомогательными веществами. Известно, что эти дополнительные компоненты могут существенно изменять токсическое действие вещества, в том числе и всасывание его через кожу. Поэтому необходимо в эксперименте изучить кожно-резорбтивное действие основного вещества, а затем в смеси со вспомогательными продуктами. Желательно, чтобы условия опыта максимально соответствовали производственным (соотношение основного вещества и вспомогательного и пр.). Повторные аппликации проводятся

5—10—20 дней и более с ежедневным нанесением $^1/_5$, $^1/_{10}$ или $^1/_{20}$ DL_{50}. В качестве показателя кумулятивного действия вещества при накожных аппликациях могут быть использованы пороговая доза, Et_{50} и др.

Выше указывалось, что в отдельных случаях появляется необходимость в определении токсичности газо- и парообразных веществ при поступлении их в организм через кожу. Эти исследования необходимо проводить в камерах. Мелкие лабораторные животные для этой цели не пригодны. Опыты проводят на более крупных животных (кролики, кошки, собаки) без удаления шерсти или только с частичным ее удалением. Основные методические трудности, которые возникают при проведении таких исследований, — исключение поступления газа или пара в дыхательные пути, что можно достичь путем использования либо шлангового противогаза, к которому животное должно быть приучено, либо специальной камеры. Устройство камеры должно предусматривать возможность помещения в нее всего тела животного, кроме головы. Необходимо следить за тщательной подгонкой отверстия, через которое голова животного выставляется наружу, для обтурации возможно использовать специальные пневматические манжеты, оклеенные резиной из велосипедных камер (Н. С. Правдин).

Могут быть использованы и другие методические приемы. Н. М. Петрунь предложил метод для определения газообмена через отдельные участки кожи. Сущность его заключается в том, что к коже липким пластырем или другим способом прикрепляется конусообразный стеклянный приемник, к которому подсоединялась газоаналитическая часть (рис.. 18). В замкнутой системе создается рециркуляция воздуха. Стеклянный приемник, прикрепляемый непосредственно к коже, который в исследованиях по изучению газообмена через кожу служит резервуаром воздуха, можно использовать для заполнения исследуемым газо- или парообразным веществом. Для этой же цели могут быть использованы колпачки с желобом для испаряющегося вещества.

Для выявления действия ядов через кожу не следует ограничиваться только учетом гибели животных или клинических признаков отравления.

Токсиколог должен располагать прежде всего данными, характеризующими степень опасности вещества при попадании его на кожу. Интегральным выражением опасности является токсичность при указанном пути поступления вещества в организм. Однако в ряде случаев, особенно когда опасность

велика, необходимы дополнительные сведения, например скорость всасывания вещества через кожу, влияние на этот процесс условий производства и др.

Ценные результаты могут быть получены при определении всасывающегося через кожу вещества или продуктов его распада в жидкостях и в тканях организма.

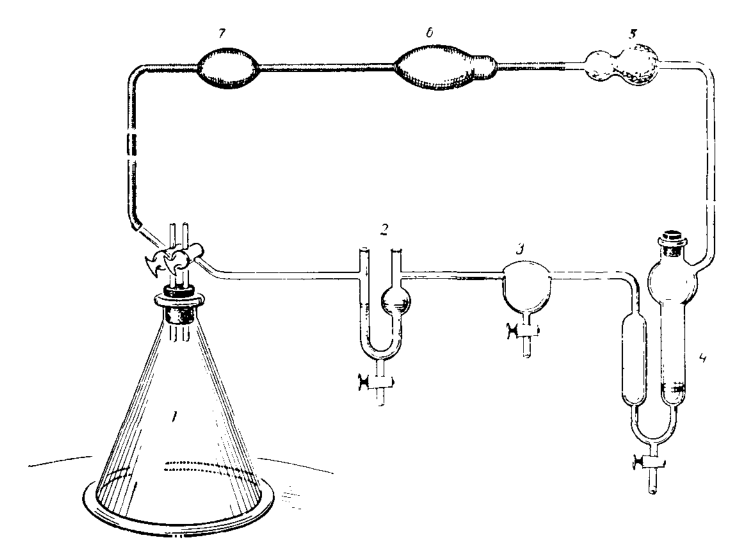


Рис. 18. Схема аппарата для изучения дыхания через отдельные участки кожи (по Н. М. Петруню).

1 — стеклянный прнемиик; 2 — сосуд с концентрированной серной кислотой для поглощения влаги; 3 — каплеуловнтель; 4 — поглотитель углекислоты; 5 — хлоркальциевая трубка; 6 — механический насос: 7 — резиновый шарик — термобарометр.

Н. В. Лазарев, А. И. Брусиловская и И. Н. Лавров определяли в крови содержание керосина, бензина, бензола, хлороформа, ацетона и других веществ после их накожной аппликации. Ими был сделан вывод о пригодности данного метода для суждения о сравнительной скорости всасывания различных веществ. Вместе с тем метод не всегда дает возможность определить абсолютное количество всасывающегося яда, что может объясняться быстрым выведением вещества из организма, кумуляцией его в отдельных органах или тканях и превращениями.

Вещества можно определять также при выделении из организма, если они не подвергаются существенным изменениям или не задерживаются в нем. Н. В. Лазарев и сотрудники опре-

деляли бензин, бензол, этиловый эфир и ацетон в выдыхаемом воздухе. При непрерывном динамическом методе определения указанных веществ по методу Матвеева удалось получить кривую выделения с выдыхаемым воздухом. Зная объем выдыхаемого воздуха и допуская, что все количество вещества выделяется через легкие (для летучих веществ это возможно), можно вычислить абсолютное количество вещества, проникшее через кожу, а соответствующий расчет на единицу времени и площади кожи позволяет установить среднюю скорость всасывания. Проникшие через кожу вещества можно определять также при выделении их из организма в моче и кале.

Однако для многих химических веществ, особенно новых, не существует достаточно точных количественных методов определения в крови и других биологических средах. В связи с указанным большее распространение получила группа методов, основанная на выявлении времени и силы общих или местных реакций организма, вызванных всосавшимся через кожу веществом. Так, И. С. Александров, изучая всасывание через кожу хвоста мышей различных амино- и нитросоединений бензольного ряда, регистрировал на кимографе дыхание и рефлекторное отдергивание конечности в ответ на раздражение индукционным током. Учет времени появления изменений дыхания и двигательных реакций, а также степени их выраженности позволили сделать выводы о силе токсического действия различных веществ при аппликации их на кожу. Ю. С. Каган, Ю. И. Кундиев и др. при изучении всасывания через кожу ряда фосфорорганических соединений определили угнетение активности холинэстеразы в крови и в других тканях. Для суждения о количестве всосавшегося через кожу вещества необходимо было установить корреляцию между степенью угнетения активности холинэстеразы и количеством яда. При этом необходимо учитывать возможность активации вещества после всасывания, а также другие превращения в организме.

Для количественной оценки всасывания вещества через кожу может быть использована еще одна группа методов. В основу их положено измерение убывания количества вещества с места аппликации, например уменьшение концентрации раствора в пробирке, куда был погружен хвост животного. Следует, однако, учитывать возможность длительной задержки вещества в коже.

Fredriksson воспользовался описанным методом для изучения всасывания через кожу зарина и его аналогов. К коже лабораторных животных прикреплялись специальные капилляры, заполненные зарином. В течение первых 10—15 минут количество вещества в капиллярах быстро уменьшалось, в последующее время заметного уменьшения не отмечалось. Автор пришел к заключению, что быстрое уменьшение вещества вначале свидетельствует о поглощении его поверхностными слоями кожи и ее придатками. Более полные данные можно получить, если сочетать измерение убывания вещества с места аппликации с выявлением его действия на организм.

Для установления скорости всасывания веществ через кожу предложен ряд методик, в которых используются изолированные кожные лоскуты. В этих случаях применяют специальные камеры (рис. 19), состоящие из двух отделений (верхнего и нижнего). Отделения разделены лоскутом кожи. Кожа фиксируется так, чтобы не было ее сдавливания или другого повреждения. В верхнее отделение на кожную поверхность наносится определенное количество вещества и равномерно распределяется по всей поверхности. Если изучаемое вещество легко испаряется, то верхнее отделение необходимо закрывать стеклянной крышкой с соответствующей смазкой. Нижнее отделение камеры заполняют физиологическим раствором, раствором Рингера или кровью. Следует обеспечить перемешивание содержимого нижнего отделения камеры. Для этого можно использовать магнитную мешалку. Через определенный промежуток времени кровь или питательную жидкость анализируют на содержание исследуемого вещества. Желательно также измерить количество его, убывшее с поверхности кожи. Преимущество описанной методики состоит в том, что можно изучать всасывание веществ через кожу не только лабораторных животных, но и человека. Лоскут кожи человека можно получить либо во время хирургических операций, либо после смерти (не позднее чем через 10—12 часов). Следует вместе с тем напомнить, что результаты исследований in vitro не могут быть полностью перенесены на целостный организм.

Д. Л. Рубинштейн и В. И. Певзнер предложили изучать всасывание веществ через кожу на изолированном ухе кролика. В отличие от обычной методики Кравкова, кроме канюли, введенной в ушную артерию, в ушную вену, точно так же отсепарированную на протяжении 5—10 мм, вводят другую канюлю. Все остальные венозные сосуды тщательно перевязывают. Приготовленный таким образом препарат уха в вертикальном положении (острым концом вниз) погружают в сосуд с изучаемым веществом. Артериальная канюля соединяется рези-

новой трубкой с сосудом, из которого под постоянным давлением поступает рингеровский раствор или другая перфузионная жидкость. Венозная канюля изогнута в виде колена, по которому оттекающая жидкость поступает в пробирку (рис. 20). Необходимо, чтобы скорость перфузий была постоянной. В опытах авторов скорость равнялась 20—25 см³ за 30 минут. Оттекающую жидкость собирали в определенные промежутки времени и в дальнейшем анализировали на содержание исследуемого вещества.

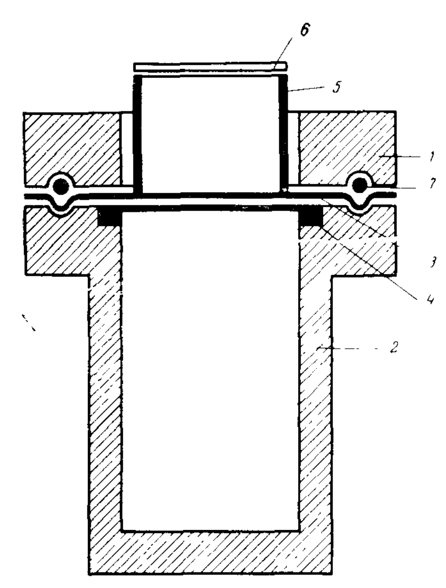


Рис. 19. Камера для изучения всасывания веществ через кожу (по Фредрикссону).

1 — отделение для аппликаций; *2* — отделение, заполняемое физиологическим раствором или кровью; *3* — кожа; *4* — тонкая решетка для поддержания кожи; *5* — металлическое кольцо, приклеенное к коже; *6* — стекло; *7* — кольцеобразная резиновая прокладка.

Ю. И. Кундиев, несколько видоизменив эту методику (ухо не погружалось в вещество, последнее наносилось на кожу на площади 2×2 см), изучал всасывание фосфорорганического соединения — октаметила. Было установлено, что при большей длительности опыта (6 часов и более) на результатах сказываются изменения, которые происходят в изолированном препарате.

При проведении исследований по всасыванию веществ через кожу in vitro большее значение имеет выбор питательной или перфузионной жидкости. Установлено, что скорость всасывания веществ через кожу, омываемую снизу физиологическим раствором, ниже, чем в случае, когда она омывается кровью (Fredriksson). Для того чтобы оценить в сравнительном плане собственно способность вещества всасываться через неповрежденную кожу, иногда следует сопоставлять дозы, вызывающие тот или иной точно учитываемый токсический эффект при аппликации вещества на кожу и при других путях введения, например при внутривенном. Этот метод был использован Ю. И. Кундиевым при изучении ряда фосфорорганических соединений.

Для каждого вещества устанавливались так называемые кожно-венозные коэффициенты. Определялись дозы, вызывающие гибель 50% животных, или дозы, вызывающие угнетение активности холинэстеразы крови на 50% (i_{50}) с последующим выведением коэффициента:

$$K = \frac{DL_{50}(i_{50}) \text{ при аппликации на кожу}}{DL_{50}(i_{50}) \text{ при внутривенном введении}},$$

где i_{50} — доза, вызывающая угнетение активности холинэстеразы на 50%.

Для получения сопоставимых данных необходимо строго придерживаться определенных условий: все исследования должны быть проведены на одном и том же виде животных; площадь аппликации веществ на кожу должна быть строго постоянной; при разбавлении веществ всегда следует использовать одни и те же разбавители, эмульгаторы и пр.

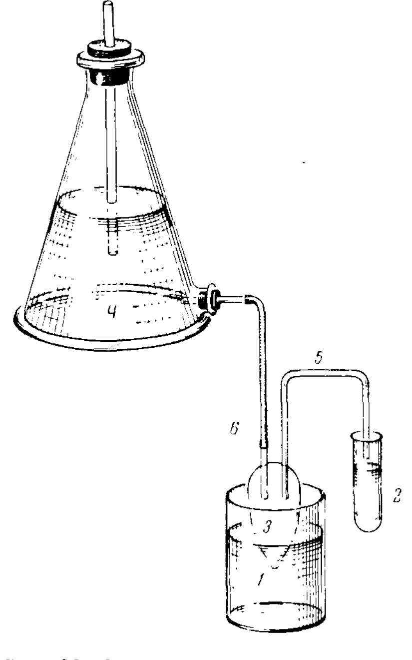


Рис. 20. Схема установки для изучения всасывания веществ через кожу на изолированном ухе кролика.

1 — сосуд с раствором изучаемого вещества; *2* — пробирка для собирания оттекающей жидкости; *3* — ухо кролика; *4* — сосуд с перфузионной жидкостью; *5* — венозная канюля; *6* — артериальная канюля.

Возможны случаи, когда вещества имеют одинаковую токсичность при аппликации на кожу, но разную скорость всасывания и, наоборот, всасываются одинаково, но имеют различную токсичность. С помощью определения кожно-венозного коэффициента можно дать сравнительную оценку токсичности веществ и способности их всасывания в организм через неповрежденную кожу. Важно знать закономерности, по которым изменяются в гомологических рядах не только токсичность при аппликациях на кожу и скорость всасывания, но также некоторые физико-химические свойства, прежде всего коэффициенты распределения масло—вода. Эти коэффициенты легко устанавливают-

ся в модельных опытах с различными несмешивающимися жидкостями, например оливковое масло — вода, толуол—вода.

Итак, чтобы оценить практическую опасность вещества при попадании его на кожу, необходимо располагать сведениями о величинах DL_{50} или CL_{50}, установленными в экспериментах на животных. Эти величины должны учитываться при обосновании предельно допустимых концентраций веществ в воздухе наряду с такими свойствами, как характер действия, зона токсического действия, кумулятивные свойства и пр.

Исходя из полученных в эксперименте данных, все химические вещества могут быть разделены на три группы.

1. Вещества, имеющие DL_{50} при кожных аппликациях до 500 мг/кг или пороговые до 100 мг/кг.

2. Вещества, коэффициент кумуляции которых приближается к 1, т. е. когда животное погибает при дробной аппликации суммарной дозы, равной смертельной при однократном воздействии.

3. Вещества, хорошо проникающие через кожу, которые способны вызывать тяжелые органические изменения при длительном поступлении в организм различными путями.

Для веществ, отнесенных к опасным хотя бы по одному из перечисленных выше признаков, при установлении предельно допустимой концентрации следует увеличить коэффициент запаса при переходе от пороговой к предельно допустимой, а в официальном перечне предельно допустимых концентраций указать: «проникает через кожу».

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Среди различных методов исследования, применяемых на животных в токсикологических лабораториях, видное место должен занимать патологоанатомический метод, позволяющий во многих случаях составить точное представление о характере и тяжести патологического процесса, возникающего при действии исследуемых веществ.

Кроме того, подробное морфологическое исследование систем и органов экспериментальных животных дает возможность более глубоко и конкретнее судить о патогенезе интоксикации.

В настоящей главе излагаются основные положения и указываются практические сведения, которыми следует руководствоваться при проведении патологоанатомических исследований экспериментального материала.

Обстановка и условия вскрытия животных. Вскрытие умерших животных должно производиться возможно раньше после смерти, особенно в теплое время года. Полежавшие при комнатной температуре трупы животных быстро подвергаются гниению и органы таких трупов не нужно исследовать гистологически, так как многие из обнаруживаемых при этом изменений являются артефактами и должны быть исключены из суждений экспериментатора. Не удовлетворяет строгим требованиям исследователя сохранение трупов на холоду — в леднике, так как при замерзании и оттаивании в тканях возникают ложные структуры, имеющие характер дистрофических изменений.

Вскрытие животных рекомендуется производить на деревянной доске, плотно вставляемой в эмалированную ванну и легко вынимаемой из нее.

Для умерщвления экспериментальных животных существует ряд способов.

1. Эфирный или хлороформный наркоз. Этот способ редко применяется, так как названные наркотические вещества могут вызывать ряд изменений в нервной системе, в легких и других органах.

2. Воздушная эмболия применяется для умерщвления кроликов, которым воздух вводят с помощью шприца в ушную вену; он сможет применяться также на собаках. Для мелких лабораторных животных, имеющих слишком малый калибр сосудов, этот способ неприменим.

3. Электрический ток применяется лишь для умерщвления крупных животных (собак, кошек). Однако он может вызывать ряд изменений в нервной системе и внутренних органах, в том числе значительные сосудистые расстройства.

4. Быстрая декапитация. Этот способ является наиболее удобным для изучения изменений в нервной системе и внутренних органах, но при нем иногда во время агонии животных может возникать аспирация крови в легочную ткань, поэтому некоторые авторы рекомендуют перерезать лишь спинной мозг, не перерезая трахеи и крупных сосудов шеи.

При вскрытии шерсть прикрепленных к доске животных смачивают водой с помощью ваты или марли, навернутых на конец пинцета, чтобы шерстинки не попадали в срезы и не портили гистологические препараты.

Крайне желательно производить взвешивание органов, особенно при хронических интоксикациях, сопровождающихся

атрофией и уменьшением веса органов. При острых интоксикациях некоторыми ядами, вызывающими токсический отек легких, необходимо производить взвешивание последних для определения степени отека, а при экспериментальных пневмокониозах—степени фиброза (берут отношение веса органа к весу тела).

Одновременно рекомендуется высушивать органы до постоянного веса (отношение сырого веса к сухому весу), что более объективно, а также позволяет дифференцировать сосудистые расстройства и разрастание ткани.

При вскрытии рекомендуется возможно чаще пользоваться лупой для рассмотрения едва заметных для невооруженного глаза изменений в органах, например различной природы узелков, мельчайших язв.

Необходимо помнить о возможности развития у животных различных спонтанных заболеваний. В частности, у кроликов и мышей — хронического эпизоотического энцефалита, вызываемого паразитом Encephalitozoon cuniculi et muris, который, как и вызываемые им изменения в головном мозге, обнаруживается лишь при микроскопическом исследовании головного мозга. Поражение паразитом головного мозга кроликов и мышей доходит до 33% от общего количества животных, поэтому для изучения изменений в центральной нервной системе при воздействии того или иного вещества надо с большой осторожностью отбирать этих животных, а лучше использовать для указанных целей белых крыс. У кроликов иногда наблюдаются подкожные флегмоны, абсцессы, нередко весьма распространенные, возникающие после драки животных, находящихся в одной клетке, и могущие оказывать влияние на клиническое течение экспериментальной интоксикации (лейкоцитоз, малокровие, истощение и др.), на изменения в органах и системах (атрофия органов, отложение желто-бурого пигмента и др.). Нередко у кроликов и крыс встречается кокцидиоз кишечника и печени, сопровождающийся поносами, а также циррозом печени; последний надо иметь в виду при дифференциальной диагностике изменений в этом органе, возникающих при хронических интоксикациях. У всех животных могут развиваться спонтанные заболевания легких — хронические гнойные бронхиты, бронхоэктазы, нередко бронхоэктатические абсцессы (особенно у крыс), пневмонии, абсцессы легких, фибринозно-гнойные, гнойные плевриты, перикардиты. Нагноительные процессы в легких (абсцессы, абсцедирующие пневмонии), возникая по типу аспирационных пневмоний, обнаруживаются у части животных при интратрахеальном введении им самых различных веществ. Они часто встречаются на поздних стадиях экспериментальных интоксикаций. Мыши нередко заболевают спонтанным амилоидозом селезенки, морские свинки — псевдотуберкулезом, крысы — пастереллезом.

Все указанное говорит о необходимости производить обязательное морфологическое исследование не только подопытных, но и контрольных животных.

При вскрытии отмечают упитанность животного, которая обычно понижена при хронических интоксикациях, что сказывается в уменьшении, а иногда почти полном отсутствии жира в подкожной, забрюшинной клетчатке и около почек. Осматривают состояние кожи, волосяного покрова, который при хронических интоксикациях может неравномерно выпадать с возникновением очаговых облысений.

После изучения влияния какого-либо вещества на кожу место нанесения тщательно осматривают и описывают. Из измененных мест берут кусочки для гистологического исследования, которые должны охватывать измененные и прилежащие к ним малоизмененные или, по-видимому, совсем неизмененные участки кожи и подкожной клетчатки. Из язвы рекомендуется брать мазки для цитологического исследования ткани.

При подкожном введении вещества, часто производимом в паховой области, необходимо исследовать паховые лимфатические узлы, отмечая изменения размеров, степень кровенаполнения с обязательным гистологическим исследованием (в регионарных по отношению к месту введения лимфатических узлах часто обнаруживают кровоизлияния, некрозы, пролиферацию клеток ретикуло-эндотелия, фагоцитоз частичек введенного вещества, склероз и др.).

Исследование нервной центральной и периферической системы. Изменения в центральной и периферической нервной системе наблюдаются весьма часто при воздействии различных химических веществ, достигая различной степени в зависимости от токсичности, характера действия вещества, примененной дозы; пути введения, длительности опыта и других условий эксперимента.

Часто важные патологические процессы в центральной нервной системе обнаруживаются лишь после микроскопического исследования. Однако макроскопическое исследование может уже указывать на тяжесть изменений: резкое полнокровие, кровоизлияния, отек ткани головного мозга.

Исследуют головной и спинной мозг, спинномозговые чувствительные нервные узлы, шейные симпатические узлы (легко

обнаруживаемые у кролика), нервные узлы пограничных симпатических стволов, расположенные в виде четок по бокам позвоночника и хорошо видимые макроскопически, нервные узлы солнечного сплетения, трудно обнаруживаемые макроскопически и поэтому извлекаемые вместе с клетчаткой, расположенной между двумя надпочечниками (кусочек этой ткани после фиксации режется на микротоме целиком и серийно). Вынутые при вскрытии нервные узлы завертывают в марлю с запиской, на которой простым карандашом написано название узла, и фиксируют в 10% нейтральном формалине или в жидкости Афа[1].

Кости черепа у мелких животных снимают по частям при помощи щипцов (в частности, можно рекомендовать удобные для этих целей маникюрные щипцы). Для костей черепа кроликов, собак и кошек, кроме щипцов, употребляют пилу и долото с молотком.

Макроскопически головной мозг и его оболочки имеют при различных интоксикациях различную степень полнокровия и отека. Последний иногда бывает настолько значительным, что вещество головного мозга буквально расползается. После осторожного извлечения головного мозга из полости черепа его на рекомендуется без фиксации разрезать или вырезать из него кусочки, лучше сразу же положить в фиксирующий раствор 10—20% формалина на 1—2 суток и только после этого приступить к вырезанию кусочков из соответствующих отделов для гистологического исследования.

Вырезают маленькие кусочки из различных отделов головного мозга. Из коры берут кусочки в области двигательного и чувствительного анализаторов. Для этого делают через головной мозг два фронтальных разреза. Первый разрез производят на уровне передних краев височных долей, второй разрез — на 2—6 мм кзади (в зависимости от величины головного мозга). На образовавшейся пластинке головного мозга хорошо видны кора, подкорковые узлы (стриатум, часть хвостатого тела), зрительный бугор и гипоталамическая область. Затем отдельно берут кусочки из продолговатого мозга и мозжечка.

Спинной мозг у малых животных берут из разных отделов (шейного, грудного, поясничного) вместе с позвонками. Кусочки кладут на 2—3 дня в 10% нейтральный формалин и лишь потом осторожно извлекают уплотненный спинной мозг, по

---

[1] Состав жидкости Афа: 1) 96° спирт; 2) крепкий нейтральный формалин; 3) 1% мышьяковистая кислота — в равных частях. Фиксация продолжается от 45 минут до 1 часа.

возможности со спинномозговыми узлами. Кусочки головного и спинного мозга после фиксации заливают обычным способом в целлоидин для окраски по Нисслю (рис. 21).

Если интоксикация сопровождается изменениями проводящих путей, проявляющимися клинически парезами и па-

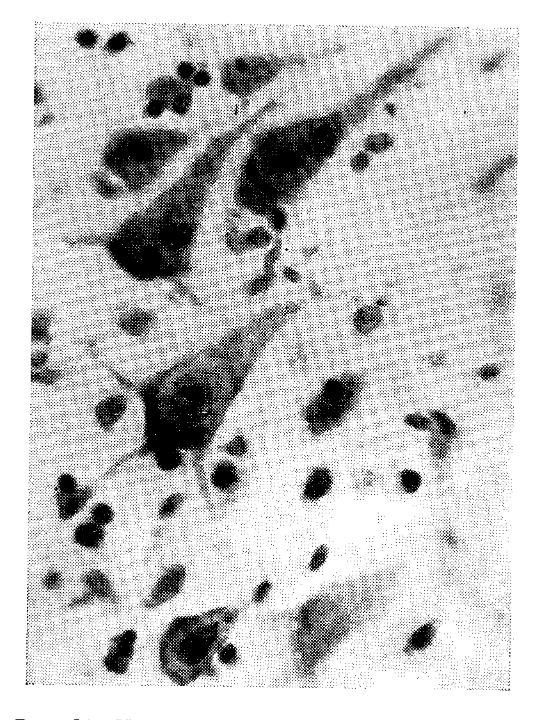


Рис. 21. Нервные клетки коры большого мозга крысы при окраске по Нисслю. Хорошо видны ядро, ядрышко и тигроидная субстанция в протоплазме клетки. Увеличение 900×.

раличами, то некоторые кусочки головного мозга режут на замораживающем микротоме и окрашивают на миелин по Шпильмейеру (рис. 22, *а*) или серебрят по Бильшовскому — Грос (рис. 22, *б*). Для изучения изменений в астроцитарной глии или микроглии применяется окраска по Снесареву или по Мийагава (рис. 23).

Для изучения изменений в межнейронных связях применяется серебрение по Гольджи (с предварительной фиксацией

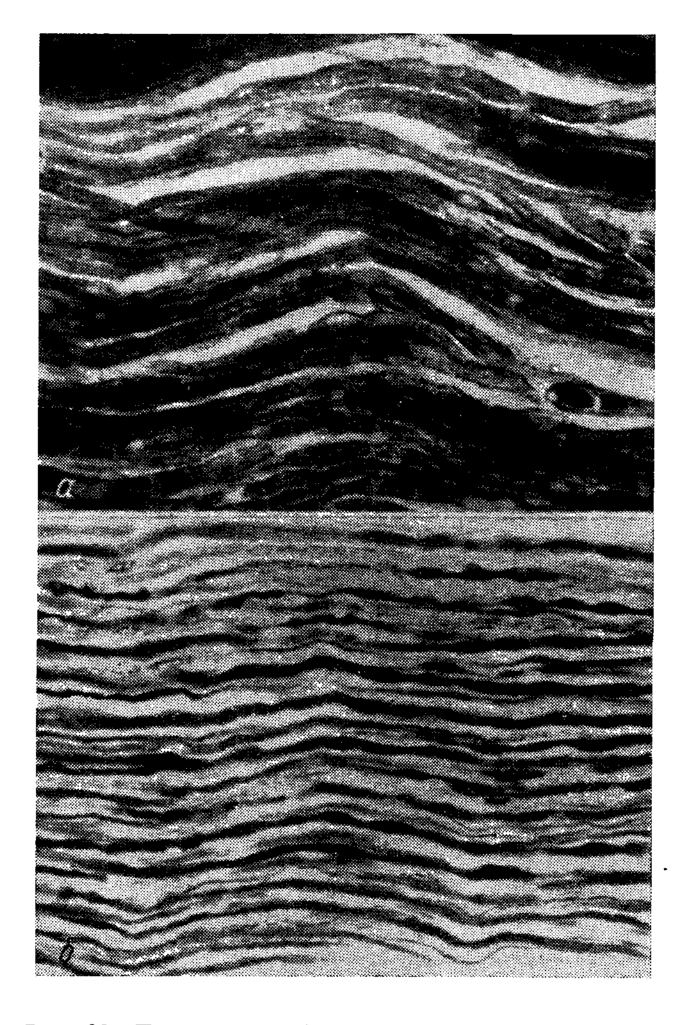


Рис. 22. Периферический нерв крысы.

а — окраска по способу Шпильмейера. Хорошо видны миелиновые влагалища (черного цвета) нервных волокон. Увеличение 600× ; *б* — серебрение по способу Бильшовского — Грос. Хорошо видны черного цвета аксоны нервных волокон. Увеличение 600×.

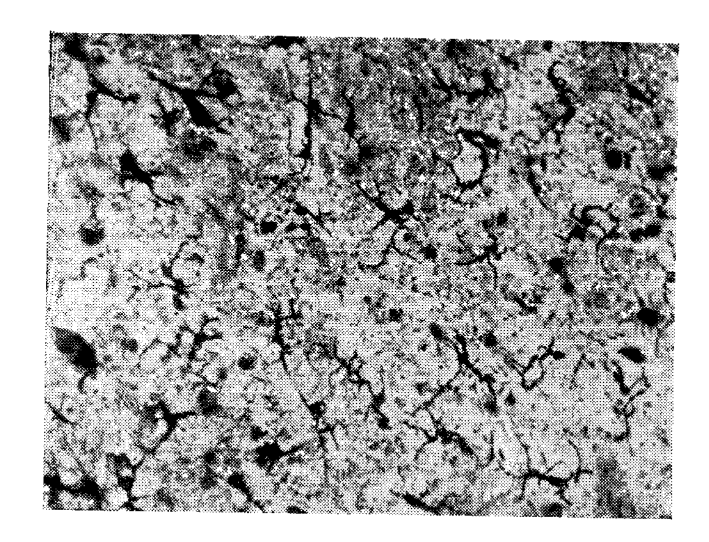


Рис. 23. Микроглия в головном мозге кролика при серебрении по способу Мийагава. Хорошо видны микроглиоциты с их многочисленными древовидно ветвящимися отростками. Увеличение 600×.

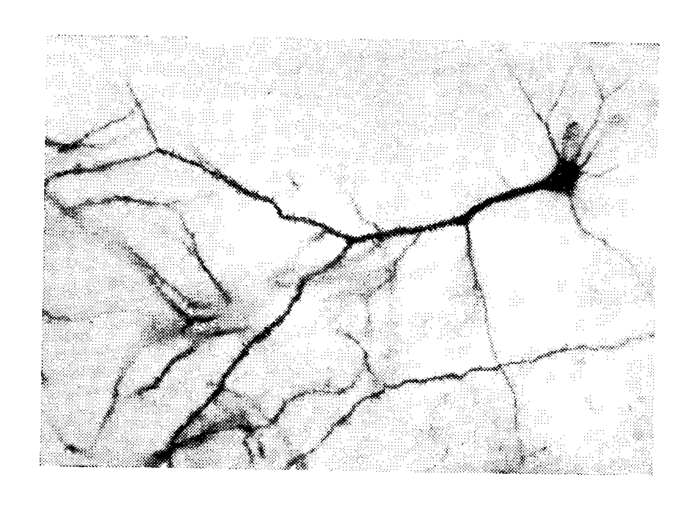


Рис. 24. Пирамидный нейрон коры большого мозга контрольной крысы при серебрении по способу Гольджи. Хорошо видны шипики на верхушечном дендрите нейрона. Увеличение 900×.

в осмиевой кислоте) (рис. 24) и по Гольджи — Бюбенету (рис. 25). Тонкие исследования межнейронных связей имеют большое значение, так как изменения в межнейронных связях соответствуют функциональным нарушениям деятельнос-

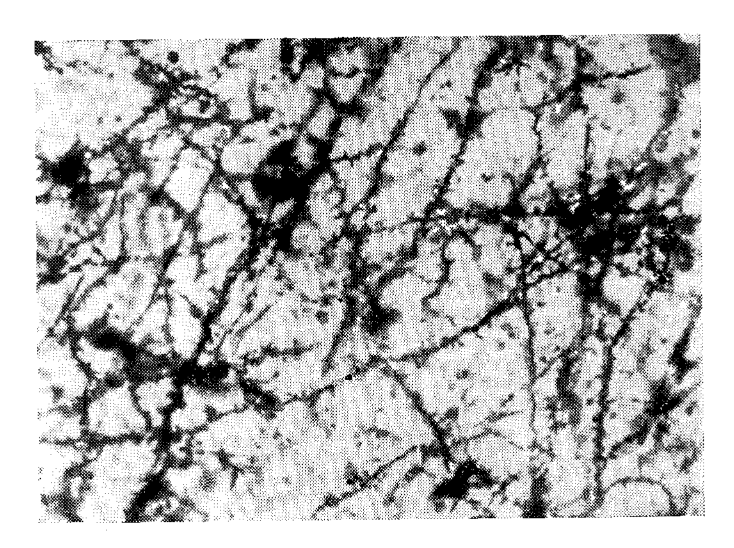


Рис. 25. Межнейронные связи верхних слоев коры большого мозга контрольной крысы при серебрении по способу Гольджи—Бюбенет. Хорошо видны шипики на дендритах. Увеличение 900×.

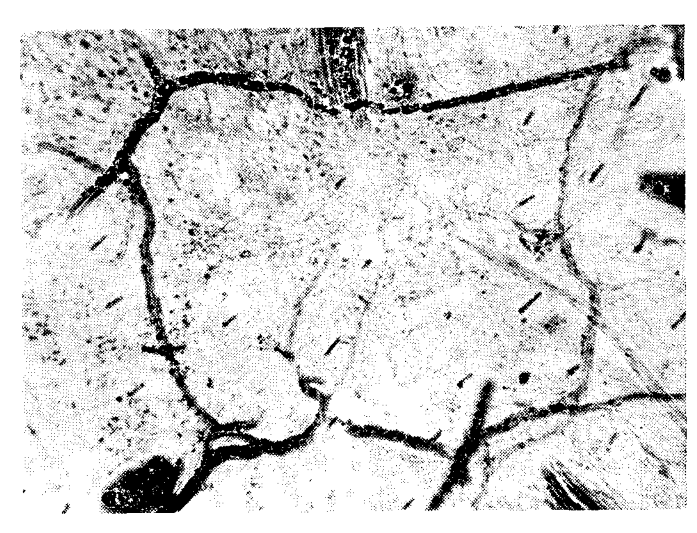


Рис. 26. Рецепторы кожи крысы при серебрении по способу Бильшовского — Грос — Лаврентьева (после фиксации в жидкости Афа). Увеличение 600×.

ти нервной системы — в виде изменения условных рефлексов у животных.

Из периферических нервов у лабораторных животных удобнее всего брать крупные нервы: седалищный, бедренный, локтевой и лучевой (берут вместе с плечевым сплетением). При интоксикациях нейротропными ядами чаще изменены нервы задних конечностей, что клинически выражается в их парезах и параличах.

Периферические нервы лучше извлекать целиком и перед фиксацией осторожно наматывать их на предметные стекла во избежание образования складок нервных волокон во время фиксации. После фиксации в 10% нейтральном формалине или жидкости Афа периферические нервы окрашивают гематоксилин-эозином, по Шпильмейеру (на миелин), а также серебрят по Бильшовскому—Грос.

Экспериментатора могут интересовать изменения рецепторного и интерорецепторного аппаратов при различных интоксикациях. Рецепторные окончания, т. е. окончания афферентных нервов, очень рано реагируют на различные воздействия. Лучше всего их изучать в областях определенных рецепторных зон, особенно богатых рецепторами. К ним относятся: кожа бедра и уха, стенка мочевого пузыря, стенка желудочно-кишечного тракта, стенка дуги аорты, перикард и миокард. Кусочки из указанных рецепторных зон фиксируют в 10% нейтральном формалине или жидкости Афа и после резки на замораживающем микротоме серебрят по способу Бильшовского—Грос—Лаврентьева (рис. 26).

При ряде интоксикаций возникают изменения в нервной системе, проявляющиеся: 1) при действии ядов, преимущественно поражающих нервную систему; 2) при действии аноксемирующих ядов (метгемоглобинообразователи, гемолитические яды) — нервные клетки, как известно, очень чувствительны к кислородному голоданию; 3) при резко выраженной общей интоксикации различными ядами; 4) при избирательном поражении некоторых внутренних органов (печени, почек), когда возможны и вторичные изменения в центральной нервной системе (например, при отравлении хлорированными углеводородами).

При всех *острых* интоксикациях в нервной системе прежде всего наблюдаются выраженные диффузные сосудистые расстройства в виде полнокровия всех отделов головного мозга, периваскулярного и перицеллюлярного отека (рис. 27), мелких и более крупных кровоизлияний. На фоне этих сосудистых расстройств при микроскопическом исследовании обна-

руживается острое набухание протоплазмы нервных клеток многих отделов головного мозга.

При подострой и хронической интоксикации различными токсическими веществами на фоне диффузных сосудистых расстройств, менее выраженных, чем при острой интоксикации, наблюдаются более типичные изменения в определенных отделах нервной системы, т. е. преимущественная локализация патологического процесса. Например, при интоксикации тетраэтилсвинцом наибольшие дистрофические изменения обнаруживаются в таламо-гипоталамической области, при воздействии трикрезилфосфата — в миелиновых оболочках двигательных проводящих путей спинного мозга и периферических нервов, при интоксикации марганцем —в стриопаллидарной системе, при интоксикации анилином—в гипоталамической области, при интоксикации свинцом — в передних рогах спинного мозга, проводящих двигательных путях и в периферических нервах, при интоксикации мышьяком — в передних и боковых рогах спинного мозга, проводящих двигательных и чувствующих путях и периферических нервах и т. д.

В местах наибольшей выраженности патологического процесса в головном мозге при микроскопическом исследовании обнаруживаются дистрофические изменения нервных клеток в виде вакуолизации (рис. 28) их протоплазмы, явлений кариоцитолиза и др.

Эти изменения в нервных клетках сопровождаются гиперплазией микроглии с явлениями нейронофагии и амебоидной дистрофией астроцитов. Иногда можно обнаружить очаговую демиелинизацию в проводящих путях голозного и спинного мозга, в виде вакуолизации и распада миелина на глыбки, а также четковидное набухание аксонов и иногда распад их на фрагменты.

Воспалительных изменений в оболочках и ткани головного мозга при интоксикациях, как правило, не наблюдается. Если же обнаруживаются инфильтраты в оболочках головного мозга и лейкоцитарные скопления вокруг сосудов, то необходимо прежде всего думать, нет ли здесь спонтанного энцефалита, который, как было указано, встречается у лабораторных животных, особенно у кроликов.

При хронической интоксикации малыми дозами различных ядов в коре головного мозга раньше других морфологических изменений обнаруживаются начальные, обратимые изменения в аксосоматических и аксодендральных межнейронных связях в виде четковидной деформации верхушечных дендритов нейронов коры (рис. 29), сопровождающиеся клинически обра-



Рис. 27. Полнокровие и периваскулярный и перицеллюлярный отек в головном мозге крысы при острой интоксикации тетраэтилсвинцом. Окраска по Нисслю. Увеличение 200×.

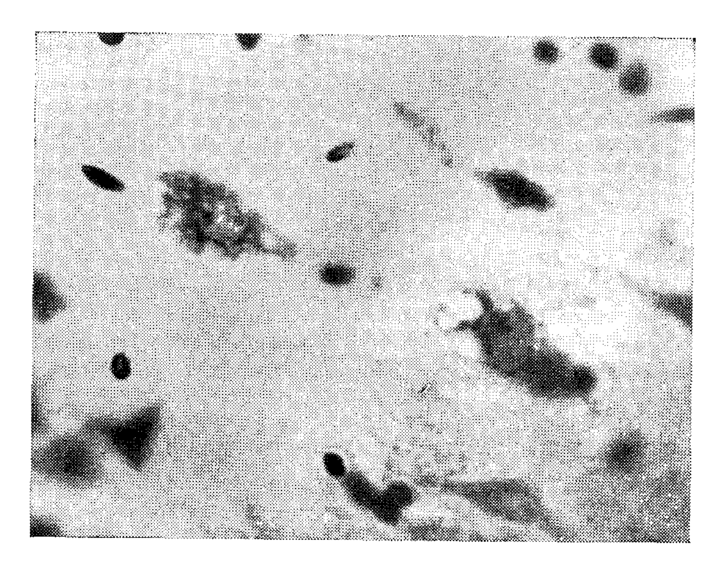


Рис. 28. Выраженная вакуолизация протоплазмы нервных клеток четвертого слоя коры крысы при подострой интоксикации свинцом. Окраска по Нисслю. Увеличение 900×.

тимыми нарушениями условнорефлекторной деятельности животных. При нарастании хронической интоксикации появляются нерезко выраженные дистрофические изменения в нервных клетках различных отделов нервной системы в виде небольшой вакуолизации протоплазмы отдельных нейронов, растворения тигроидного вещества и появления интенсивно закрашивающихся сморщенных нервных клеток.

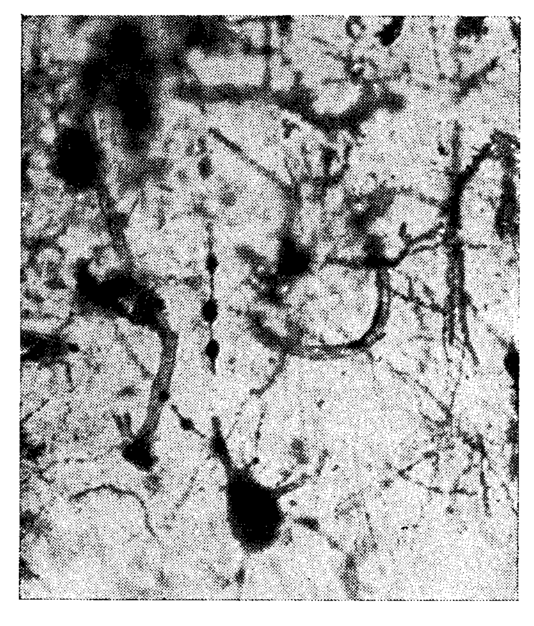


Рис. 29. Четковидная деформация верхушечного дендрита пирамидного нейрона коры головного мозга крысы с исчезновением шипиков на дендрите при интоксикации малыми дозами диметилформамида. Серебрение по Гольджи. Увеличение 900×.

Рано развивающиеся явления раздражения в рецепторном и интерорецепторном аппаратах различных рецепторных зон при действии малых доз различных вредных веществ, возникнув, сами могут служить источником рефлекторных влияний на обменные процессы в том или ином органе и этим отягощать течение интоксикаций.

Изменения в органах дыхания при острых интоксикациях. При ингаляции газов, паров, пылей в значительной концентрации изменения различной степени выраженности обнаруживаются в носовой полости, гортани, трахее, первичных бронхах (которые необходимо тщательно вскрывать во всех случаях). Слизистая оболочка этих отделов воздухоносных путей может быть резко полнокровной, набухшей, с точечными кровоизлияниями, иногда с гнойным отделяемым.

Легкие. У животных, подвергнутых острому воздействию ядов, в легких может обнаруживаться очаговая эмфизема в виде участков белесоватого, бледно-розового цвета, хорошо заметных особенно по краям органа. Наряду с эмфиземой встречаются западающие участки темно-красного (бурого) цвета — ателектазы, возникающие вследствие закрытия просветов бронхов слизью, отпадающим эпителием, кровью. При ингаляционном введении веществ в остром опыте, как правило, у животных наблюдаются расстройства кровообращения — полнокровие, различной величины кровоизлияния в паренхиму, отек. Эти изменения хорошо выявляются при гистологическом исследовании соответствующих участков легких. Очень часто в острый период (на 1—3-й день после ингаляции вещества) других изменений, в том числе воспалительных (пневмоний), не отмечается. Лишь при ингаляции токсических веществ типа раздражающих можно микроскопически обнаружить явления катарального или катарально-десквамативного бронхита и бронхиолита (рис. 30).

Указанные изменения в легких, достигая значительной степени, могут быть причиной смерти животных. При умеренной их степени, обнаруживаемой у забитых животных, они могут подвергаться обратному развитию.

В подостром периоде (на 6—15-й день после ингаляции), помимо указанных, могут обнаруживаться уже хорошо выраженные воспалительные изменения двоякого рода: интерстициальная и очаговая бронхопневмония. Первая выявляется лишь при микроскопическом исследовании легких и характеризуется расширением и резким полнокровием капилляров перегородок, размножением в последних гистиоцитов и, что особенно характерно, появлением в перегородках, а также в клетчатке вокруг сосудов и бронхов большого количества лейкоцитов — полинуклеаров. В силу указанных изменений альвеолярные перегородки становятся толстыми. В одних опытах перечисленные выше изменения через различные сроки подвергаются обратному развитию (что прослеживается в нескольких сериях животных, последовательно забиваемых через определенные промежутки времени после ингаляции). В других опытах, например при хронической ингаляции ма-

лыми дозами вещества, межуточный процесс в легких не ослабевает и возникает межуточный склероз, в том числе вокруг бронхов и сосудов.

Следовательно, следует обратить особое внимание на развитие в легких при ингаляции того или иного вещества то обратимого, то прогрессирующего межуточного процесса, ука-

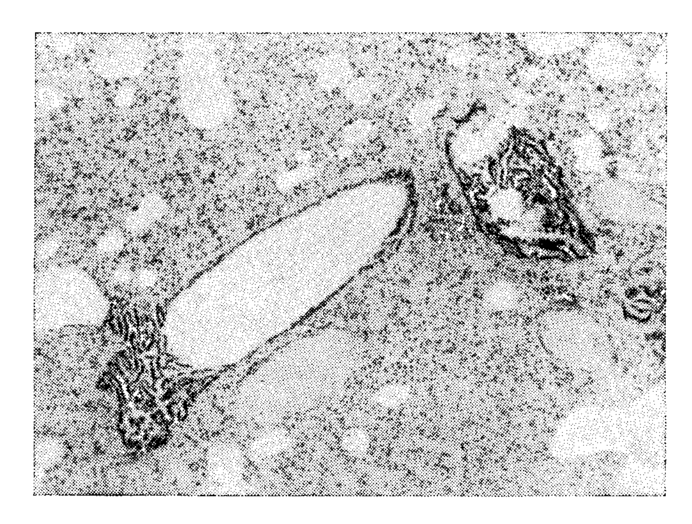


Рис. 30. Явления катарально-десквамативного бронхита, отек окружающей ткани легких, местами катарально-геморрагическая пневмония в легком крысы при остром ингаляционном отравлении фталевым ангидридом. Увеличение 300×.

зывающего на явную агрессивность вещества в отношении его местного действия.

Бронхопневмонии возникают в виде отдельных или множественных мелких очагов, они обнаруживаются у забитых по ходу опыта животных, или же, достигая значительного распространения, являются непосредственной причиной смерти животных. Одновременно в результате интоксикации могут наблюдаться реакция клеток ретикуло-эндотелия регионарных — бифуркационных лимфатических узлов, а также дистрофические изменения в головном мозге и внутренних органах.

При хронических интоксикациях в легких, в зависимости от характера вещества, могут возникать или сравнительно слабые изменения, не ведущие к смертельному исходу, или же тяжелые изменения: хронический гнойный бронхит, бронхоэктазы, бронхопневмонии, участки карнификации, обусловливающие гибель животного.

В сердце при различных интоксикациях встречается белковая и очаговая мелкокапельная жировая дистрофия. Нередко можно обнаружить увеличенное количество гистиоцитов в межуточной ткани, но истинный межуточный миокардит с компактными клеточными инфильтратами встречается не часто. Его обнаружение указывает на тяжелую степень интоксикации.

Следует обратить внимание на часто встречающиеся при тяжелых интоксикациях изменения в стенках мелких артерий и артериол внутренних органов (селезенка, почки и др.) в виде их набухания и гомогенизации, вплоть до так называемого фибриноидного некроза (плазматическое пропитывание стенок сосудов).

Органы пищеварения. При изучении токсичности химических веществ путем введения их в желудочно-кишечный тракт изменения различного характера и степени возникают в желудке, в различных отрезках кишечника, в печени. В желудке и кишечнике наблюдается катаральный, катарально-десквамативный, катарально-геморрагический гастрит, энтерит, энтероколит, характеризующиеся набуханием, полнокровием слизистой оболочки, кровоизлияниями в нее, выделением большого количества слизи. Микроскопически обнаруживаются резкое полнокровие, отек слизистой оболочки, подслизистого слоя, кровоизлияния, некроз и десквамация эпителия, нередко целыми пластами, геперплазия желез (рис. 31). При хронических процессах микроскопически отмечается атрофия железистых элементов, инфильтрация стромы слизистой оболочки лимфоидными и плазматическими клетками, склероз подслизистого слоя.

Следует отметить, что желудочно-кишечный тракт может поражаться различными ядами и при введении их под кожу, что обычно указывает на выделение данных токсических веществ слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта.

В печени обнаруживается резкая степень жировой дистрофии, макроскопически характеризующейся дряблостью органа, желтым его цветом, а микроскопически (при окраске срезов на жир шарлахом или суданом III) — распространенным ожирением клеток печени, указывающим на тяжелое поражение (рис. 32). В печени нередко наблюдается пролиферация клеток ретикуло-эндотелия, в тяжелых случаях весьма

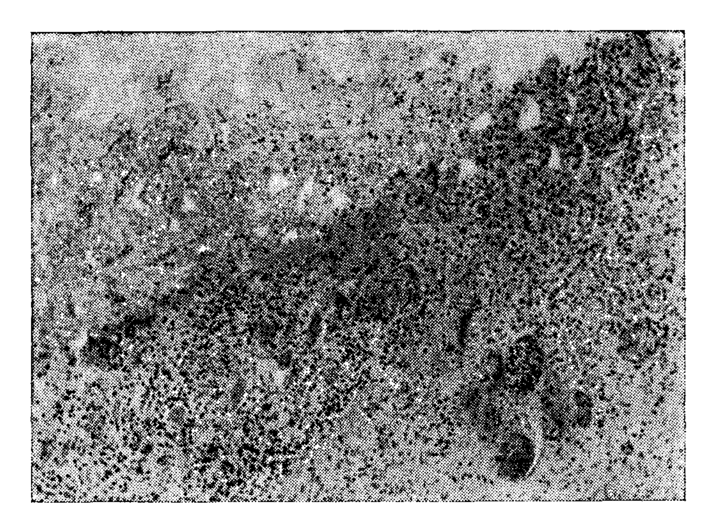


Рис. 31. Катарально-десквамативный, местами некротический энтерит. Мелкие круглоклеточные инфильтраты в подслизистой в тонком кишечнике крысы при внутрижелудочном введении больших доз фталевого ангидрида. Увеличение 300×.

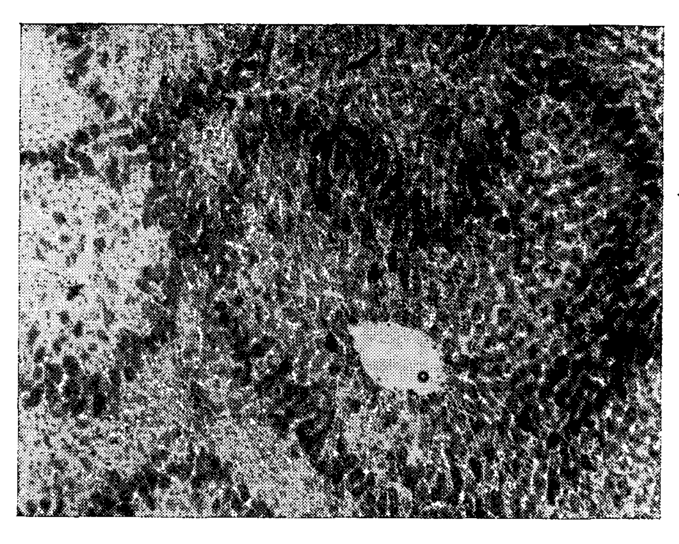


Рис. 32. Тяжелая мелкокапельная жировая дистрофия клеток печени преимущественно вокруг центральных вен у крысы при остром отравлении сероуглеродом. Окраска суданом III. Увеличение 300×.

распространенная, напоминающая реакцию ретикуло-эндотелия при лейкемии у человека. Могут встречаться милиарные и более крупные некробиотические и некротические участки, возникающие вследствие расстройств кровообращения и воздействия всасывающегося токсического вещества. При хронических интоксикациях возникают склеротические и даже цирротические изменения: орган уменьшается в размерах, поверхность его неровная; гистологически обнаруживается склероз капсулы, различной степени межуточный склероз с инфильтратами из лимфоидных и плазматических клеток; несколько ранее среди этих клеток обнаруживаются в небольшом количестве полинуклеары, что представляет собой явный признак хронически протекающего воспалительного процесса.

Почки. Важное значение для характеристики действия вещества приобретают изменения в почках как в выделительном органе. Гистологические изменения в них нередко могут иметь решающее значение в характеристике исследуемого вещества. Макроскопически почки иногда бывают увеличены в объеме, отмечается также увеличение их веса: на разрезе ткань почек тусклая, дряблая, более или менее полнокровна, иногда с мелкими кровоизлияниями. Особое значение имеют дистрофические изменения в эпителии извитых канальцев (рис. 33), достигающие иногда степени некротического нефроза. Значительно реже наблюдается острый, подострый и хронический гломерулонефрит, межуточный нефрит с круглоклеточными инфильтратами в межуточной ткани.

Небольшие круглоклеточные инфильтраты и слабый очаговый межуточный склероз могут наблюдаться у старых животных без какой-либо интоксикации.

Органы кроветворения. При ряде интоксикаций (бензол и его гомологи, анилин и др.) значительные изменения возникают в костном мозге, селезенке, лимфатической системе.

Для полного и правильного представления о состоянии костного мозга необходимо исследование следующих его отделов: из грудины, позвонков (поясничных) и длинных трубчатых костей — бедра. Для фиксации кусочков костного мозга не рекомендуются растворы формалина, а желательно использовать фиксирующие жидкости, содержащие соединения хрома. Лучше употреблять жидкость Ценкера, Гели (Zenker, Helly), несколько хуже фиксирует жидкость Орт-Мюллера (Orth-Muller). При обработке кусочков костного мозга необходимо иметь в виду следующие методические указания. Кусочки костного мозга из грудины берут

без костных пластинок, покрывающих грудину с передней и задней ее поверхности. Удаление этих пластинок перед фиксацией значительно укорачивает время декальцинации кусочков, что создает лучшие условия для последующей окраски гистологических срезов. То же рекомендуется делать в отношении кусочков костного мозга, вырезаемых из позвонков, они должны быть небольшие и нетолстые. Костный

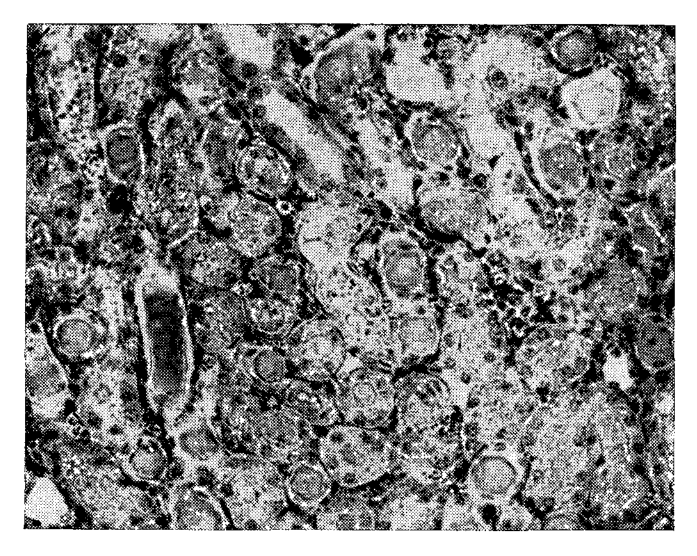


Рис. 33. Явления некротического нефроза с гибелью массы извитых канальцев почки у крысы при отравлении антифризом. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 200×.

мозг длинных трубчатых костей обычно очень мягкой консистенции, располагается среди малого количества мелких костных перекладин, однако внутри крепкой костной ткани. Последняя легко удаляется крепкими ножницами и кусочек костного мозга легко вынимается; для того чтобы он не распался на мелкие кусочки во время фиксации, при промывании после фиксации и проведении в спиртах, его завертывают в марлю, в которой он находится вплоть до наклейки его целлоидином на деревянный блок. Ввиду малого количества в этом костном мозге костных перекладин его можно не декальцинировать, что гарантирует получение элективной окраски срезов.

Костный мозг при различных интоксикациях может быть жировым — недеятельным, или, наоборот, в состоянии гиперплазии, со скоплениями молодых форм — миелобластов.

В селезенке при различных интоксикациях могут наблюдаться атрофические процессы — атрофия фолликулов, склероз, отложение желто-бурого пигмента, дающего положительную реакцию на железо. Наличие большого количества этого пигмента в пульпе указывает на хронический гемолиз эритроцитов в крови. Одновременное нахождение такого же пигмента в печени, лимфатических узлах более определенно указывает на гемолитические явления в крови.

В отличие от инфекций селезенка при интоксикациях химическими продуктами редко бывает увеличенной. Увеличение наблюдается при параличе ее мускулатуры и обусловлено увеличенным кровенаполнением, а не гиперплазией клеточных элементов. Увеличение за счет клеточных элементов обычно отмечается при присоединяющихся вторичных инфекциях.

Железы внутренней секреции, гонады. Химические вещества обычно поражают железы внутренней секреции, половые органы. Например, щитовидная железа поражается (с увеличением или уменьшением ее функции) при интоксикации свинцом, ртутью, тиомочевиной и др.

Морфологические изменения надпочечников (с уменьшением или увеличением функции), не считая всех острых интоксикаций, наблюдаются, например, при отравлении свинцом, никотином, аминами и др. Семенники и яичники изменяются с понижением воспроизводительной функции при многих интоксикациях: тяжелыми металлами, органическими перекисями, фосфором, трикрезилфосфатом, производными этиленимина, хлорированными углеводородами и т. д.

Поджелудочная железа поражается (с атрофией островков Лангерганса и явлениями диабета) четыреххлористым углеродом, аллоксаном, металлами (цинком), карбаматами, тиомочевиной и др.

При интоксикациях в железах внутренней секреции и половых органах можно наблюдать мелкие кровоизлияния, некрозы, дистрофические, атрофические и гиперпластические процессы. На примере исследования желез внутренней секреции (например, изменение эпителия и диаметра фолликулов щитовидной железы или подсчет сперматогоний) можно показать, что количественный статистический метод в морфологии значительно более чувствителен и дает возможность выявить существенные изменения тканей иногда до появления ка-

чественных признаков поражения, описываемых при обычном чтении препаратов.

Для глубокого проникновения в сущность патологических процессов необходимы более тонкие методы исследования.

Гистохимические методы исследования. Изучение тонких гистохимических изменений в тканях и клетках нервной системы и внутренних органов лабораторных животных помогает в уяснении патогенеза интоксикаций и дает возможность выявить ранние морфологические изменения при действии малых доз изучаемых веществ, когда обычные гистологические методы еще не выявляют патологического процесса. Наиболее общими приемами являются изучение содержания рибонуклеиновых кислот в протоплазме различных клеток и дезоксирибонуклеиновых кислот в ядре клеток. Изучение содержания и распределения в тканях и клетках сульфгидрильных групп помогает в уяснении патогенеза интоксикации, например, тяжелыми металлами и органическими перекисями, которые блокируют сульфгидрильные группы.

Рекомендуется применять гистохимические методы исследования ферментов в тканях и клетках в сочетании с биохимическими определениями активности тех же ферментов в сыворотке крови. Угнетение первых в сочетании с повышением активности вторых может свидетельствовать о начавшемся процессе разрушения клеток. Некоторые авторы рекомендуют гистохимические исследования для прямого обоснования ПДК, что представляется не всегда убедительным без дополнительных функциональных исследований.

Гистохимия — область науки, граничащая с морфологией и биохимией. Поэтому для трактовки результатов исследования необходима двойная компетенция. Случайные, бессистемные гистохимические исследования нецелесообразны.

Гистохимия поднимается на высокую ступень при применении тканевых фотометров (например, МУФ-5), позволяющих количественно оценивать структурные биохимические реакции. Обход прямой фотометрии через фотографию значительно менее удобен.

Исследования с помощью электронного микроскопа. Исследования с помощью электронного микроскопа выявляют тонкие, субмикроскопические изменения в различных тканях и клетках. Все, что до сих пор описывалось под названием дистрофических, дегенеративных и других изменений, обнаруживаемых с помощью светового микроскопа, приобретает при этом методе исследования уже конкретное содержание. Под влиянием различных химических и физических факторов выявляются ранние структурные изменения в ядре и цитоплазме: изменение числа, характера митохондрий, обнаружение в цитоплазме и в межклеточных пространствах мельчайших частиц минеральной (кварцевой) и металлической промышленной пыли, выявляются ранние стадии развития соединительной ткани при воздействии различных промышленных веществ.

В профессиональной токсикологии с помощью указанного метода могут быть вскрыты интимные механизмы действия различных промышленных веществ, что при динамических исследованиях позволяет на очень высоком уровне изучать патогенез той или иной интоксикации.

Блестящие результаты этот метод может дать в комбинации с гистохимическими методами.

Таким образом, современные морфологические методы, особенно количественные функциональные методы, при тщательной обработке экспериментального материала позволяют получить незаменимую и гигиенически высокозначимую информацию о характере действия ядов, о порогах вредных эффектов и, наконец, о патогенезе интоксикаций.

Необходимо отметить, что тонкие исследования нервной системы (изучение изменений межнейронных связей, синапсов, рецепторов), а также гистохимические и электронномикроскопические методы исследования позволяют обнаружить ранние изменения начального функционального характера (функциональная морфология), которые могут подтвердить и объяснить функционально-физиологические отклонения в клинике экспериментальных животных (нарушение условных рефлексов, нарушение мышечной возбудимости и др.).

Морфологические исследования помогают токсикологам в установлении предельно допустимых концентраций. Например, в процессе хронической ингаляционной интоксикации различными химическими веществами у животных при отсутствии клинических проявлений морфологическими исследованиями могут обнаруживаться явления трахеита, бронхита, утолщение альвеолярных перегородок, т. е. явления легкого раздражения дыхательных путей, а иногда и начальные явления пневмосклероза.

Особенно важны морфологические исследования для определения канцерогенного действия химических факторов (действие радиоактивных изотопов, окиси никеля, бериллия, хрома). В этих случаях только морфологические исследования могут показать ранние изменения: начало бластомогенного роста у животных.

ЧАСТЬ IV. ОБЩИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИЙ ОРГАНОВ И СИСТЕМ С ЦЕЛЬЮ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОРОГА ДЕЙСТВИЯ ВЕЩЕСТВА

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Почти в любом токсикологическом эксперименте проводится оценка функционального состояния нервной системы — системы, интегрирующей организм. Для этой цели используются различные методы. Описание их представлено в различных руководствах. Однако экспериментатору, особенно начинающему, очень важно правильно ориентироваться в сравнительной чувствительности различных методов.

Идея И. П. Павлова об условном рефлексе как о центральном явлении высшей нервной деятельности не только выдержала испытание временем, но и получила новые экспериментальные подтверждения (Э. А. Асратян, 1953; П. К. Анохин, 1958; Mints, 1962, и др.).

Для целей токсикологического эксперимента классическая слюнная методика у собак была заменена пищевой двигательной методикой у крыс, кроликов и кошек.

В лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР под руководством Н. С. Правдина метод условных рефлексов применяется с 1943 г. с целью определения порога вредного действия химических веществ. Заслуга Н. С. Правдина и его учеников Н. К. Кулагиной и А. И. Корбаковой заключается в обосновании метода индивидуальной выработки условных рефлексов у мелких животных. Н. С. Правдин внедрил метод условных рефлексов в работу лаборатории токсикологии Московского института гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана. В настоящее время метод условных рефлексов апробирован в лабораториях токсикологии институтов гигиены труда и профзаболеваний, а также на кафедрах медицинских институтов.

За рубежом метод условных рефлексов в промышленной токсикологии плодотворно применяется в Чехословацкой Социалистической Республике (Horvath, Frantic, Grosmanova, Mikiskova, 1966). Польской Народной Республике (Minecki, 1966) и других странах. В США метод условных рефлексов вышел за пределы психологии, хотя до сих пор многие американские исследователи считают условный рефлекс чисто психологическим понятием (У. Г. Гасанов, 1957).

Адекватность метода, лабораторные животные. Метод условных рефлексов чувствителен и обладает гигиенической значимостью, так как современное производство требует большого психического напряжения.

Понятно, что залогом успеха при выполнении биологического эксперимента является правильно примененная методика. На это указывал И. П. Павлов в предисловии к книге Н. А. Подкопаева «Методика изучения условных рефлексов». В то же время И. П. Павлов придавал большое значение изучению безусловных рефлексов как основного неизменного фундамента, на котором строится здание приобретенных рефлексов. Он выделял четыре основные категории рефлексов: пищевые, оборонительные, ориентировочно-исследовательские и половые, которые уже сами по себе в большей мере обеспечивают уравновешивание организма с внешней средой.

На основании литературных данных можно заключить, что для определения имеющих гигиеническую значимость минимальных изменений высшей нервной деятельности как критерия вредности при обосновании ПДК наиболее приемлема пищевая двигательная методика. Изменения оборонительных условных рефлексов отмечаются при относительно более сильных воздействиях; лабиринтным методом нарушения выявляются, как правило, только при выраженной интоксикации (М. Хорват и др., 1965). Однако лабиринтный метод и метод оборонительных рефлексов все еще широко используется за рубежом для выявления механизма действия токсических веществ и установления пороговых уровней (Desi, Tanoth, 1966).

Наиболее распространенным видом лабораторных животных для работы с условными рефлексами являются белые крысы, кошки; белые мыши и кролики используются для указанных целей относительно редко. Применение собак в токсикологических экспериментах резко увеличивает стои-

мость исследований, так как, чтобы получить статистически значимые результаты, например, при определении пороговой концентрации, необходимо минимум 15 собак. Однако для решения вопросов механизма действия химических веществ собаки являются наиболее подходящими видами животных.

Приборы. Двигательные пищевые рефлексы вырабатываются в специальных камерах различных конструкций. В книге М. Л. Рыловой (1964) «Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте» в хронологическом порядке дается описание некоторых из этих камер.

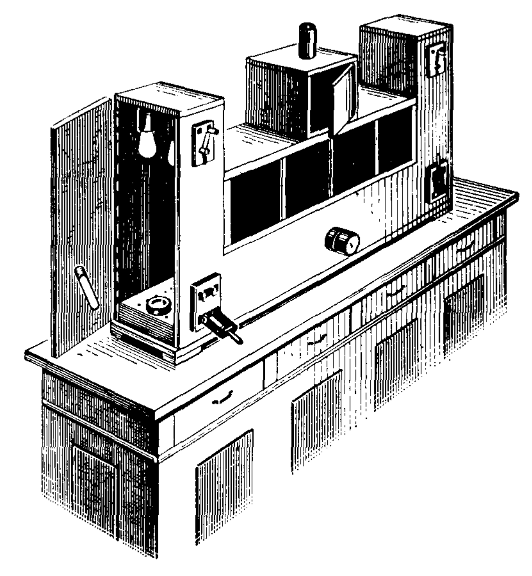


Рис. 34. Камера конструкции Н. С. Правдина для выработки пищевых двигательных условных рефлексов у крыс.

Наибольшее распространение в токсикологических лабораториях получили камеры конструкции Н. С. Правдина (1947) с различными модификациями (рис. 34) и Л. И. Котляревского (1951) (рис. 35), особенно с автоматической регистрацией (В. А. Кривошей, 1963). Распространены модификации А. Ф. Аксюка (1960), Н. И. Лосева, В. Е. Миклашевского (1963).

В камере последней конструкции Л. И. Котляревского учитывается лишь локальная двигательная реакция животного, связанная с открыванием дверцы камеры. Животное всегда получает корм в одном месте — из кормушки, отделенной от него подвижной стеклянной дверцей, поэтому натуральный условный рефлекс на вид пищи может быть легко и точно оценен. Устройство объективной регистрации основных показателей условнорефлекторной деятельности белых крыс может быть без труда выполнено силами сотрудников любой токсикологической лаборатории.

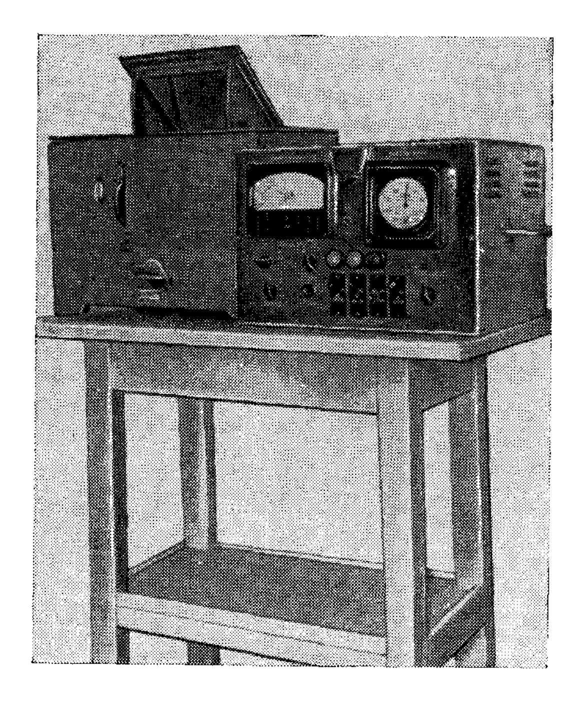


Рис. 35. Камера конструкции Л. И. Котляревского для выработки локальных пищевых условных рефлексов с автоматической регистрацией.

По принципу камеры Н. С. Правдина разработана камера Е. И. Спыну (1954) для выработки условных рефлексов у кошек, которая в настоящее время широко применяется.

А. А. Канаревской и В. П. Егоровым по образцу камеры Н. С. Правдина сконструирована камера для выработки условных рефлексов одновременно на 4 крысах (рис. 36). При этом затрата труда для выработки условного рефлекса

на каждое животное значительно меньше по сравнению с индивидуальной выработкой условного рефлекса. Понятно, что групповая выработка производится только до упрочения условных рефлексов.

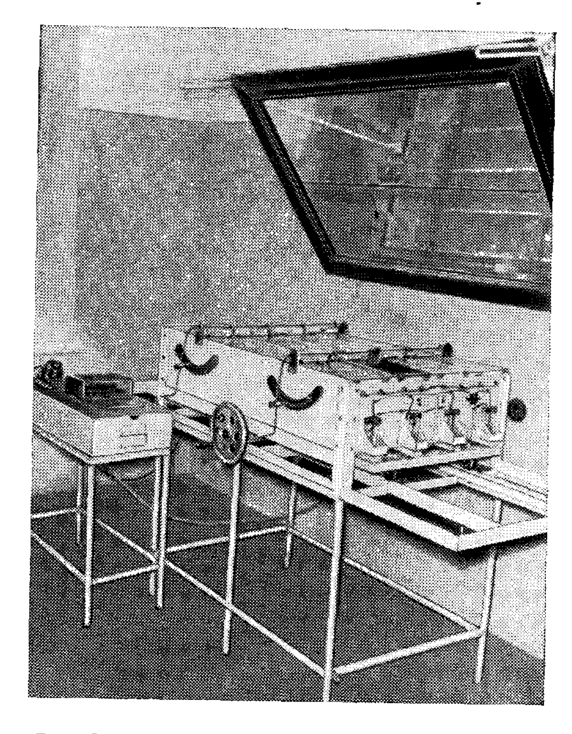


Рис. 36. Камера конструкции А. А. Канаревской и В. П. Егорова для выработки пищевых двигательных условных рефлексов одновременно на 4 крысах.

Наиболее прогрессивным является внедрение автоматического программирования, управления и объективной регистрации условных рефлексов.

А. И. Арбузов (1954), Р. Л. Шейкин (1958), С. А. Евдокимов и соавторы (1961), E. Frantic, M. Horvath (1964), В. П. Корнильев, А. П. Королевский (1963), В. Д. Бартеньев и М. Е. Коварский (1964), Н. К. Барков, В. А. Кривопалов (1965), А. Я. Бройтман (1962), предложили автоматические и полуавтоматические установки для выработки условных рефлексов.

В лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР также сконструирована подобная камера. Установка (рис. 37) состоит из камеры для животных с раздражителями и кормушками, электронного программного устройства, включающего определенные раздражители в заданной последовательности. В установку входит также записывающий прибор, отмечающий включение сигнала и реакцию животного. Серия опытов может быть автоматически повторена 3—6 раз. Контактные часы включают питание всей установки в определенное время. По заданию сигнал должен включаться через 2—3 секунды после включения записывающего прибора, а кормушка или одномоментно с сигналом, или с любым отставлением. Длительность подачи сигнала от 5 до 20 секунд. Все эти задержки и выдержки времени осуществляются электронными реле времени. Выдержки можно легко изменять. Для регистрации

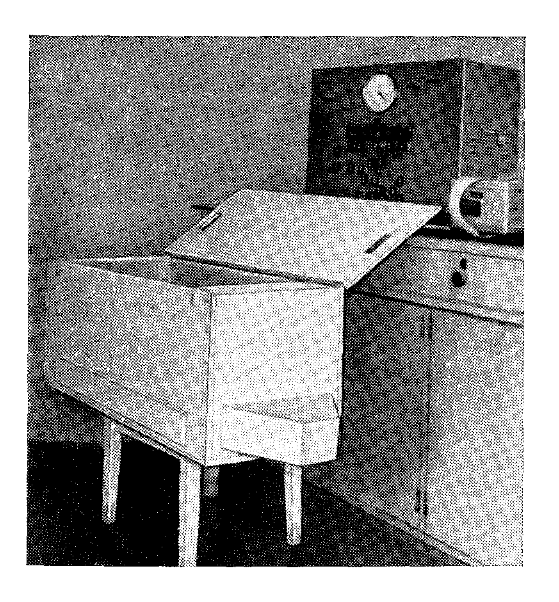


Рис. 37. Камера-автомат для выработки пищевых двигательных условных рефлексов у крыс.

положения животного в камере используются неподвижные контакты (подобный принцип описан Knoll).

Как указывалось уже выше, для выработки условных рефлексов иногда используются и кролики (М. Ф. Поливанная, 1953, 1963; М. К. Калинина и Г. И. Цобкалло, 1962; Б. И. Котляр, Л. В. Калюжный, 1964, и др.). Е. А. Лобанова (1959) применила для этих целей камеру конструкции О. В. Малиновского (1952).

Принцип выработки условных рефлексов во всех перечисленных камерах одинаков. Для опытов берут молодых растущих животных — крыс весом 140—160 г, кошек весом 2—3 кг. Ежедневно натощак, главным образом в утренние часы, проводятся сеансы выработки условных рефлексов. В первые 2—3 дня у животных, особенно у крыс, угашается ориентировочный рефлекс. Животные привыкают к камере, кормушкам, корму. В этот период уже по быстроте угашения ориентировочного рефлекса, поведению животного в новой обстановке складывается впечатление о типологических особенностях высшей нервной деятельности. Животных, резко реагирущих на внешние раздражители (бросают корм, прижимаются к стенкам камеры, длительное время не подходят и не берут корм), как правило, из опыта исключать не следует, так как действие минимальных концентраций веществ на животных со слабым типом высшей нервной деятельности проявляется особенно отчетливо. Таких животных необходимо равномерно распределять в опытной и контрольной группах.

Для одновременной выработки условных рефлексов у нескольких животных (в камере конструкции А. А. Канаревской и В. П. Егорова) их разбивают на соответствующие группы, согласно типу высшей нервной деятельности на основании 3—4 пробных сеансов, чтобы реакции животных на условные раздражители были примерно одинаковыми.

Угашение ориентировочной реакции наступает у крыс после 3—6 сеансов, у кошек в течение одного сеанса. После угашения ориентировочного рефлекса приступают к выработке положительного условного рефлекса на сильный раздражитель — звонок. На фоне уже выработанного рефлекса быстрее вырабатывается рефлекс на последующие, в том числе и слабые раздражители (свет). Довольно быстро (у крыс в течение одной недели, у кошек в течение одного дня) вырабатывается условный рефлекс на звонок. Этот рефлекс непрочен и требует дальнейшей тренировки еще в течение 2 недель для крыс и 2—3 дней для кошек. После этого составляется

стереотип (чередование раздражителей), куда вводится также и дифференцировочный раздражитель — обычно зуммер.

Дифференцирование звуковых раздражителей (звонок, зуммер) представляет для животных более легкую задачу, чем различение чистых тонов разной частоты с одним и тем же уровнем интенсивности.

Первые 3—4 дня выработка условных рефлексов проводится с совпадением начала действия раздражителей и момента подачи пищи (кусочки белого хлеба или семечки подсолнечника). В последующем переходят к выработке отставленных рефлексов, когда подкрепление подается с некоторым интервалом после начала действия раздражителя (в наших опытах 3 секунды). Время действия каждого раздражителя 10 секунд. Стереотип обычно составляется по следующему типу: свет, свет, звонок, зуммер, звонок, свет, звонок, зуммер, звонок, свет, свет. Возможна и другая последовательность подачи раздражителей: звонок, звонок, красный свет, звонок, зуммер, звонок, красный свет, звонок, зуммер, звонок. При изменении стереотипа во время работы возможны нарушения условных рефлексов (И. А. Зачиняева, 1961; Р. Г. Зевальд, 1963).

Если в процессе выработки система из 10 раздражителей оказывалась трудной, что проявилось у животных большой неустойчивостью условных рефлексов, то количество раздражителей сокращалось до 7. У некоторых крыс не удавалось выработать полной (нулевой) дифференцировки. В этих случаях учитывалась частота срывов и скорость перебежки.

При выработке условных рефлексов у крыс важное значение имеют интервалы между раздражителями. Показано, что при быстро сменяющих друг друга раздражителях, особенно положительного и дифференцировочного (30 секунд и менее), у животных могут развиваться неврозы. Оптимальными являются промежутки в $1^1/_2$—2 минуты для сильных уравновешенных животных и $2^1/_2$—3 минуты для слабых.

Для кошек раздражители могут подаваться сразу, как только животное съело корм.

Показателями состояния высшей нервной деятельности служат.

1. Скрытый период, т. е. время от момента дачи условного раздражителя до начала двигательной реакции в секундах.

2. Скорость двигательной реакции — время перебежки до кормушки в секундах или сила толчка дверки в камере Котляревского.

3. Состояние дифференцировки—отсутствие или наличие двигательной реакции на зуммер.

4. Силовые взаимоотношения — соотношение реакций на свет и звонок.

В норме ответная реакция на условные раздражители разной физической силы идет более или менее параллельно их силе. При снижении работоспособности нервной клетки раздражители разной силы дают одинаковый эффект (уравнительная фаза) или сильные раздражители не вызывают эффекта, в то время как слабые вызывают его (парадоксальная фаза). Иногда животное начинает реагировать на дифференцировочный сигнал, в то время как на положительные реакции отсутствуют (ультрапарадоксальная фаза). При некоторых интоксикациях могут быть равномерно снижены реакции на все положительные раздражители (наркотическая фаза). Состояние высшей нервной деятельности по указанным выше пунктам 1—4 записывается в протоколе опыта и иллюстрируется диаграммами, построенными следующим образом. По оси абсцисс указан стереотип, по оси ординат — время в секундах. Показатели состояния высшей нервной деятельности представлены высотой ординат, отходящих от условно обозначенных раздражителей. Первый опыт каждой диаграммы — норма, затем идут дни воздействия и восстановления.

Выработка условных рефлексов у крыс является процессом длительным и трудоемким. Для выработки стойких рефлексов, особенно на дифференцировочный раздражитель, необходимо 3 месяца ежедневных тренировок. По нашим данным, у крыс условные рефлексы на звонок появляются на 3—18-м сочетаниях, становятся прочными на 10—15-м, на белый свет — на 3—10-м и 15—45-м, дифференцировку на зуммер— на 10—20-м и 50—70-м соответственно.

Значительно менее трудоемка выработка условных рефлекслов у кошек: положительные условные рефлексы становятся постоянными уже при работе в течение 10 дней, выработать стереотип с упрочением дифференцировки удается в течение месяца.

При выработке условных рефлексов следует учитывать возрастные изменения условнорефлекторной деятельности. Как правило, у старых животных условные рефлексы вырабатываются с большим трудом (М. С. Колесников и соавторы, 1959). У молодых животных отмечается меньшая подвижность и большая неуравновешенность нервных процессов (Г. А. Образцова, 1953).

В литературе имеются указания на то, что во время течки, беременности и лактации у собак условнорефлекторная деятельность нарушается (Д. С. Фурсиков, 1922; И. С. Розенталь, 1922; И. Р. Пророков, 1941; Б. Ф. Сергеев, 1959 и др.).

Мы не наблюдали изменений условнорефлекторной деятельности у крыс и кошек во время течки, поэтому проводили опыты на самках и самцах, но никогда для этих целей не использовали одну камеру. В случае беременности животных исключали из опыта. При работах на кошках в осенне-летне-зимний период с одинаковым успехом используются самцы и самки. В весенний период желательно работать с самками.

Определение типологических особенностей высшей нервной деятельности экспериментальных животных

Как показали многочисленные работы школы И. П. Павлова, тип высшей нервной деятельности оказывает существенное влияние на течение патологического процесса.

Как известно, И. П. Павлов делил всех животных на четыре основных типа в зависимости от различного сочетания свойств нервной системы: силы нервных процессов — раздражительного и тормозного, степени уравновешенности и их подвижности.

Для характеристики типа высшей нервной деятельности лабораторных животных служат следующие показатели.

1. Скорость образования и упрочения положительных условных рефлексов.
2. Состояние положительных реакций при действии посторонних раздражителей.
3. Скорость и характер угасания и скорость последующего восстановления положительных условных реакций.
4. Сила раздражительного процесса.
5. Скорость образования и упрочения дифференцировки.
6. Прочность дифференцировки и возможные колебания в норме.
7. Сила тормозного процесса.
8. Последовательное торможение.

Сила раздражительного процесса испытывается повышением пищевой возбудимости посредством голодания. У животных с сильным раздражительным процессом после суточного голодания эффекты сильных раздражителей (звонок) лишь незначительно повышаются или остаются на прежнем уровне, эффекты же слабых раздражителей (свет) значительно

повышаются и могут даже превысить эффект от сильного раздражителя. У животных со слабым раздражительным процессом при повышении пищевой возбудимости наступает понижение эффектов от всех раздражителей.

Сила тормозного процесса определяется тем промежутком времени, в течение которого животное может выдерживать непрерывное действие тормозного раздражителя, обычно действие раздражителя удлиняется до 3 минут. Животные сильного, но неуравновешенного типа, а также слабого типа не выдерживают затянувшегося удлиненного торможения. У первых преобладает раздражительный процесс и поэтому у них наблюдается относительная слабость тормозного процесса, у вторых может быть ослаблен как процесс раздражения, так и торможения. При сильном тормозном процессе однократные или повторные продления тормозного раздражителя до 3 минут не вызывают никаких нарушений условнорефлекторной деятельности.

Другим признаком силы тормозного процесса является последовательное торможение, т. е. удлинение скрытого периода или полное отсутствие реакции на положительный раздражитель, следующий за испытанием дифференцировки. По мере тренировки торможение концентрируется во времени и, наконец, последовательное торможение исчезает, при слабом тормозном процессе оно остается.

Подвижность нервных процессов характеризуется скоростью и характером угасания и скоростью последующего восстановления положительных условных рефлексов. Для этого фиксируется количество неподкрепленных, а затем вновь подкрепленных раздражений. Угашенными считаются рефлексы, если животное не отвечает реакцией на 4—5 раздражителей. Через 5—10 минут после угашения или непосредственно после него рефлексы восстанавливаются сочетанием условного и безусловного раздражителя. Угашение условных рефлексов можно применять как нагрузку для выявления интоксикации у животных. Показано, что чем выше подвижность нервных процессов, тем быстрее восстанавливается ранее выработанная система условных рефлексов, и наоборот (М. С. Алексеева и В. К. Федоров, 1963).

Методике оценки свойств основных нервных процессов при определении типа высшей нервной деятельности посвящен ряд работ (Э. П. Кокорина, 1963; сборник статей под редакцией В. Н. Черниговского, 1964; С. М. Павленко, 1963, и др.).

Имеется попытка математического анализа индивидуальных особенностей типа животных по таким показателям, как сила активного торможения, сила возбуждения, подвижность процессов и др. (С. Н. Черкинский, В. Н. Тугаринова, 1960; А. Н. Малышко, П. В. Симонов, 1963). M. Horvath с соавторами предложена прямая запись активности животного на перфоленту с последующим вводом в вычислительную машину.

Определение порога острого действия вещества методом условных рефлексов

После того как у животных прочно выработаны условные рефлексы, т. е. когда время скрытого периода и скорости перебежки становятся постоянными, дифференцировка либо нулевой, либо стабилизированной, животные подвергаются воздействию химических агентов в затравочных камерах в различных концентрациях. Для получения сравнимых данных исследования проводят по следующей схеме: время воздействия — 4 часа, испытание состояния условных рефлексов — через 15—30 минут после затравки и в последующие дни до восстановления. Прежде чем подвергать животное воздействию вещества, проводится несколько «холостых» опытов; животное находится в затравочной камере без воздействия, после чего исследуется состояние условных рефлексов. Опыты имеют целью исключить влияние новой обстановки. Эти предварительные контрольные опыты у одних животных не вызывают заметных изменений в выработанных условных рефлексах, у других — «холостые» опыты повторяют ежедневно до тех пор, пока животное не привыкнет к новой обстановке.

В некоторых случаях испытание условных рефлексов производится непосредственно во время затравки, для чего сконструированы специальные камеры (З. Э. Григорьев, 1955; А. А. Голубев, 1955).

Как правило, испытываются 3—4 концентрации.

Для того чтобы у мелких лабораторных животных вскрыть последовательность изменений возбудительного и тормозного процессов при разнообразных внешних воздействиях, необходимо использовать ряд функциональных нагрузок (изменение дифференцировки, скорости угасания и изменения отставленных рефлексов, пробы с суточным голоданием, сильным внешним раздражителем и др.).

При сопоставлении изменений высшей нервной деятельности у различных животных (крысы, мыши) следует иметь в виду, что у крыс значительно раньше, чем у мышей, процесс

торможения выступает как профилактический фактор, предотвращающий дальнейшее истощение центральной нервной системы.

Другие методики исследования высшей нервной деятельности экспериментальных животных

Для некоторых исследований токсикологи иногда применяют методику выработки условных рефлексов в виде перемещения по лабиринту к кормушке (А. Г. Бухтияров и соавторы, 1960; О. А. Наумова, 1960). Более широко исследование высшей нервной деятельности в лабиринте распространено за рубежом. Однако для целей промышленной токсикологии эта методика менее удобна.

Двигательные оборонительные условные рефлексы (в том числе отряхивательный рефлекс у кролика) также не получили широкого распространения в промышленной токсикологии и промышленной гигиене, хотя и были использованы рядом авторов (Б. Д. Карпов, 1957; А. Я. Бройтман, 1962; В. К. Федоров, 1964, и др.).

Методика изучения двигательных оборонительных условных рефлексов с некоторыми модификациями была использована В. П. Парибоком (1954), В. Г. Филимоновым (1959), А. М. Рябиновской (1960), Н. Ю. Алексеенко, У. Г. Гасановым (1957), К. В. Лебедевым (1961), А. И. Сергеевой и др. (1963).

Д. М. Белов и др. (1962) предложили для указанных целей автоматическую программирующую установку.

Ускоренная методика выявления изменений условных рефлексов

Сюй Бин (1956) и Н. В. Саватеев (1957), Н. Я. Лукомская (1957) применили методику, при которой учитывалась скорость образования условных рефлексов у мышей на фоне введенного лекарственного средства. А. А. Голубев (1958) применил аналогичный метод в промышленной токсикологии и показал, что при хроническом воздействии скорость выработки условных рефлексов у животных изменялась раньше, чем наступали изменения условнорефлекторной деятельности у животных с заранее закрепленными условными рефлексами. В 1959 г. А. А. Голубев разработал специальную камеру, позволяющую более точно учитывать скорость перебежки

животных. В качестве подкрепления им был использован электрический ток.

В лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР для указанных целей с успехом была применена камера конструкции А. А. Канаревской и В. П. Егорова, а также Л. И. Котляревского (для выработки локального рефлекса).

Относительная чувствительность метода условных рефлексов и электроэнцефалографии

Электроэнцефалография в настоящее время используется для оценки функционального состояния коры головного мозга. Особенно широко применяется электроэнцефалография в санитарно-гигиенических исследованиях преимущественно на людях, при определении максимально разовых ПДК атмосферных загрязнений.

Применение метода электроэнцефалографии на мелких лабораторных животных связано со значительными методическими трудностями. Тем не менее были проведены соответствующие исследования в промышленной и коммунальной токсикологии (Н. В. Дмитриева, 1965; Г. З. Каган, 1965; H. Mikiskova a. A. Mikiska, 1968, и др.).

Ю. А. Холодов (1964) указывает, что изменения в центральной нервной системе, выявляемые с помощью электроэнцефалографического метода, иногда начинаются раньше, чем любые другие изменения в организме. По данным Reynolds, Pavlik (1960), при внутривенном введении этилового спирта у обезьян вначале изменялась электроэнцефалограмма, при большей дозе нарушались выработанные условные рефлексы. В то же время Г. З. Каган при определении пороговой дозы триэтиламина по изменению функции центральной нервной системы пришел к заключению, что метод условных рефлексов и метод электроэнцефалографии при навязывании ритмов оказались одинаково чувствительными, а порог действия при изучении спонтанной электрической активности головного мозга оказался более высоким, чем порог, определенный по методу условных рефлексов. Нарушения условнорефлекторной деятельности при интоксикации хлористым метиленом (И. П. Уланова, 1961) регистрировались при более низких концентрациях, чем изменения, выявленные на электроэнцефалограмме Н. В. Дмитриевой при регистрации активности во время ритмической световой стимуляции. Аналогичные данные получены Horvath и соавторами (1965).

Значительная сложность и весьма большая затрата времени при работе с электроэнцефалографией делают затруднительным широкое применение последнего метода в эксперименте на животных. Вместе с тем применение метода электроэнцефалографии оправдано при изучении механизма действия нейтротропных ядов, выявления локализации патологического процесса и др. (Higashido, 1966; Mashimoto и др., 1966).

Следует согласиться с С. В. Аничковым (1962), М. Хорватом (1965), М. М. Атаевым, В. В. Глушковой (1964), что для разрешения специальных вопросов необходимо использовать комплекс методов, дающих возможность изучения основных возбудительных и тормозных функций центральной нервной системы на различных уровнях организации. Техника и методики электроэнцефалограмм описаны во многих руководствах. Для практических целей может быть рекомендована «Техника и методики электроэнцефалографии» Ю. Г. Кратина и соавторов (1963).

Интерпретация результатов исследования условнорефлекторной деятельности. Наименьшая концентрация, вызвавшая статистически достоверные изменения условных рефлексов, считается порогом вредного действия. Однако статистическая обработка данных, к сожалению, проводится лишь отдельными исследователями (К. П. Стасенкова, 1961; В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский и др., 1963; Ю. С. Дмитриев, 1964; А. А. Сагал, 1961; В. Д. Брогден, 1963).

Особенно важна статистическая обработка материала, когда необходимо выяснить закономерности изменений высшей нервной деятельности на протяжении длительных периодов, на фоне колебаний, свойственных данному животному. В этом случае необходимо сравнивать результаты разных воздействий, т. е. давать оценку совокупности опытов.

Основные статистические приемы соответствующей обработки изложены в работе В. Е. Миклашевского, В. Н. Тугариновой (1963).

Авторы исходили из предположения о распределении вероятностей (латентный период, сила реакции положительных и отрицательных условных рефлексов) по Гауссу. Однако, по данным Н. Н. Лившиц (1960), только на положительные раздражители распределение вероятностей величин слюнных условных рефлексов близко к кривым нормального распределения. Вероятности величины слюноотделения на дифференцировочное раздражение чаще всего распределяется по Пуассону. Это ограничивает, в частности, возможность использования методов Стьюдента и Фишера. Анализ материалов по латентному периоду положительных условных рефлексов, проведенный нами совместно с Е. А. Лобановой, свидетельствует о его нормальном распределении. Следовательно, при этом обычный статистический метод обработки применим без ограничений. При обработке данных дифференцировки следует пользоваться методами непараметрической статистики (критерий Wilcoxon, критерий Van der Waerden и др.).

Одним из наиболее важных является вопрос об использовании данных, полученных в эксперименте на животных, в гигиенической практике. По мнению А. Г. Воронина (1959), элементарные процессы высшей нервной деятельности проявляются более или менее одинаково у животных, стоящих на разных уровнях филогенеза. Различия между низшими и высшими животными обнаруживаются в том, что последним свойственны сложные формы нервной деятельности (реакции на комплексные раздражители, аналитико-синтетические процессы).

А. В. Напалков, Г. Л. Веревкина, Е. В. Штильман (1959) указывают, что у человека, собак, кошек, кроликов сложные рефлексы формировались быстро и были прочными.

Таким образом, большинство исследований свидетельствуют о возможности более или менее обоснованного переноса данных, полученных при изучении изменений условных рефлексов у животных под влиянием малых количеств разнообразных ядов, в гигиеническую практику. Особенно показано применение метода условных рефлексов для определения порога острого действия нейротропных веществ. В связи с высокой пластичностью высшей нервной деятельности трактовка результатов применения метода условных рефлексов в хроническом эксперименте затруднена.

В хронических опытах с тетранитрометаном, хлористым метиленом, тетрахлоралканами, диметилформамидом, бензолом наблюдались волнообразные изменения высшей нервной деятельности: периоды нарушения чередовались с периодами полного восстановления, несмотря на продолжающуюся затравку (А. И. Корбакова, 1962; К. П. Стасенкова, 1961; И. П. Уланова, 1961). На возможность явлений привыкания или адаптации центральной нервной системы к химическим веществам имеется также указание Е. И. Люблиной (1957).

Влияние факторов внешней среды на условные рефлексы может быть результатом не только их прямого действия на кору, но и косвенно через посредство нижележащих образований. Было показано, что бенактизин и другие холинолитики антихолинэстеразного действия блокируют в первую оче-

редь холинергические синапсы восходящей части ретикулярной формации. Блокирование этих синапсов приводило к снижению условных рефлексов. На роль ретикулярной формации и подкорковых образований в нарушении условных рефлексов указывают Н. Ю. Беленков и соавторы (1961), Г. М. Глумов (1962), С. И. Гальперин и соавторы (1963), Г. Гасто (1962), Ф. П. Ведяев (1963) и др.

Оценка функционального состояния центральной нервной системы при помощи метода хронаксиметрии

Теория хронаксии тесно связана с учением Н. Е. Введенского, который ввел в физиологию понятие о лабильности или функциональной подвижности тканей. Однако, если лабильность характеризует скорость протекания в ткани всего процесса возбуждения в целом, хронаксия показывает лишь скорость возникновения возбуждения (А. А. Ухтомский, 1927).

Л. Лапик (1935, 1936), автор теории хронаксии, предложил измерять возбудимость ткани двумя величинами: наименьшей силой тока, вызывающей реакции ткани при условии длительного (приблизительно 0,1 секунды) действия (реобаза), и временем реакции при силе тока, равной удвоенной реобазе (хронаксия).

Метод хронаксиметрии позволяет оценить состояние возбудимости не только периферических тканей, но косвенно и состояние центральной нервной системы. Удлинение хронаксии свидетельствует о понижении возбудимости центральной нервной системы, а укорочение — о повышении возбудимости.

Однако, как показали работы советских авторов, хронаксия является величиной вариабельной даже у одного и того же лица (Д. А. Марков, 1956) и животного (Е. А. Мельникова, 1957). Поэтому соотношение хронаксий мышц-антагонистов 1 : 2 является условным.

Существенная роль в вариабельности хронаксии принадлежит периферическим влияниям: болевые, температурные, оптические, звуковые, обонятельные, участие проприо- и экстерорецепторов и др. Однако выравнивания хронаксии сгибателей и разгибателей в норме не отмечается. Поэтому с методической точки зрения при определении функционального состояния центральной нервной системы правильнее определять именно соотношение хронаксии мышц сгибателей и разгибателей (И. М. Вул и Ю. М. Уфлянд, 1939; С. А. Яковлева, 1939; А. Л. Коников, 1941; М. Г. Бабаджанян, 1959, и др.).

В настоящее время измеряются оптическая, вестибулярная, вкусовая и двигательная хронаксия. Наибольшее распространение имеет метод определения двигательной хронаксии как наиболее простой и наиболее чувствительный.

Впервые для изучения влияния химических веществ на организм метод хронаксии был применен фармакологами. Л. Лапик (1935) использовал метод хронаксии для выявления действия кураре. Затем этот метод был с успехом использован для изучения действия наркотиков и местноанестезирующих веществ (М. Д. Машковский, 1943), наркотиков и аналептиков (В. В. Закусов, 1950) и многих других.

Некоторые авторы отмечают высокую чувствительность метода хронаксии при исследовании хронического воздействия химических веществ. Так, Pislary (1960) указывает, что при хроническом воздействии паров бензола и монохлорбензола изменение хронаксии наступало раньше, чем отмечались биохимические сдвиги.

Дуань Фын-жуй (1959), Т. М. Шульга (1961) также указывают на высокую чувствительность метода хронаксии при длительном воздействии сероуглерода, метилового спирта и окиси углерода. Чувствительным оказался метод хронаксиметрии при хроническом воздействии стирола (Н. С. Злобина, 1963), метилуретанбензосульфогидразина (М. В. Алдырева, 1963).

Некоторые авторы, наоборот, указывали на малую чувствительность метода хронаксии. Так, Э. Н. Левина (1957), изучавшая хроническое воздействие закиси-окиси марганца, не отметила высокой чувствительности этого метода.

Методика. Хронаксиметрические исследования в экспериментах проводятся на кроликах, крысах, морских свинках, мышах, собаках, кошках.

Для токсикологических экспериментов чаще всего используются кролики и крысы.

При определении моторной хронаксии на кроликах животное фиксируют в станке. Анод привязывают к спине или кролика животом кладут на него. Предварительно с этих мест у животного удаляют шерсть, а перед исследованием электроды увлажняют физиологическим раствором. Катод прикладывают к коже в том месте, где наиболее удобно производить раздражение соответствующего нервного ствола. Чаще всего это задняя конечность кролика, где в месте проекции седалищного нерва также удаляют шерсть. Иногда используют иголь-

чатые электроды, однако само по себе вкалывание может вызывать изменение хронаксии.

Исследование моторной хронаксии на крысах производится следующим образом: пассивный электрод, покрытый снаружи несколькими слоями марли и смоченный физиологическим раствором, укладывают под брюшко крысы. Крысу привязывают за конечности к специальной доске. Правую заднюю конечность, на которой исследуют хронаксию, привязывают в полусогнутом свободном положении для того, чтобы хорошо было видно сокращение расслабленных мышц и отдергивание конечности.

Для раздражения нервных стволов (обычно n. ischiadicus) активный электрод, также обернутый марлей и смоченный физиологическим раствором, прикладывают к месту наиболее близкого расположения нерва под кожей.

Н. В. Тягин (1958) предложил специальный станок для изучения хронаксиметрии у мышей и крыс. При использовании этого станка индифферентный электрод фиксируют под корнем хвоста, активный прикладывают на расстоянии 3—5 см от кончика хвоста.

В последние годы для исследования хронаксии широкое распространение получил электронный импульсный стимулятор моделей ИСЭ-06, ИСЭ-01.

Хронаксиметр ИСЭ-01 при переходе с режима постоянного тока на режим генерации импульсов автоматически удваивает реобазу по отношению к величине исходного постоянного тока.

Для определения реобазы чаще работают на шкале от 0 до 30 с плавно переменным сопротивлением при установке прибора на режим «постоянный ток». Определение хронаксии производится при переходе с режима постоянного тока на режим генерации одиночных импульсов с автоматически удвоенной величиной постоянного тока.

Изменение длительности импульса разбито на четыре диапазона с плавным их перекрытием. Чаще пользуются II диапазоном, позволяющим определить импульсы длительностью от 0,01 до 0,1 мсек.

Ход работы следующий: определение реобазы начинают при напряжении постоянного тока 1—2 v постепенно увеличивая его до порогового. Изменение хронаксии производится вслед за измерением реобазы. При этом переключатель ставят на режим «одиночные импульсы» и время импульса плавной регулировкой увеличивают до появления видимой физиологической реакции. Полученная величина и есть хронаксия,

которая выражается в тысячных долях секунды. Реобазу принято выражать в вольтах.

В литературе неоднократно указывалось, что хронаксия является грубым показателем возбудимости, поэтому она не может или не всегда может правильно отражать ее (П. П. Лазарев, 1936; А. А. Ухтомский, 1927; П. О. Макаров, 1934, 1940, 1947, 1952; Л. Р. Цкипуридзе, 1943). Д. Н. Насонов и Д. Л. Розенталь (1953) доказывали, что при определении хронаксии каждый раз определяется реобаза, т. к. не обеспечивается постоянство пороговой силы тока. Поэтому, с точки зрения авторов, хронаксия не может быть использована для определения скорости физиологической реакции.

Взамен метода хронаксиметрии Д. Н. Насонов и Д. Л. Розенталь предлагают определять минимальную силу тока, которая необходима, чтобы вызвать минимальную ответную реакцию ткани при коротком времени воздействия.

А. О. Навакатикян (1954) также подчеркивает, что хронаксия является грубым показателем возбудимости. Поэтому при изучении динамики возбудимости одинаковых объектов следует пользоваться не хронаксией, а более точными показателями, такими, как реобаза.

Ф. С. Троп (1958) подробно рассматривал предложения Д. Н. Насонова и Д. Л. Розенталь и, сравнив их предложения с методом хронаксиметрии, пришел к выводу, что оба метода равноценны.

Определение функционального состояния центральной нервной системы по способности суммировать подпороговые импульсы

Определение способности центральной нервной системы суммировать подпороговые импульсы было впервые предпринято фармакологами для суждения о действии химических веществ. В. В. Закусов (1953) разработал и с успехом применил этот метод определения функционального состояния центральной нервной системы кролика при воздействии наркотических веществ. Им же была сопоставлена чувствительность различных методов, применяемых при изучении функционального состояния нервной системы. В дальнейшем этим методом пользовались П. Дашням (1958), Е. Е. Беленький и соавторы (1960).

М. А. Розин (1954) видоизменил методику В. В. Закусова применительно к мелким лабораторным животным. В дальнейшем этот метод получил широкое распространение в про-

мышленной токсикологии (И. В. Олюнин, 1958; Н. П. Уланова, 1961; К. С. Клинская, 1957, и др.).

В токсикологической лаборатории Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР метод определения функционального состояния нервной системы по способности суммировать подпороговые раздражения применяется с 1956 г. Мы пользовались видоизмененным методом М. А. Розина. Источником импульсного тока служил аппарат АСМ-2, генерирующий импульсы прямоугольной формы, определенной частоты и длительности. Животных (мыши, крысы, морские свинки), удерживаемых рукой в вертикальном положении, помещали задними конечностями на два металлических электрода, смоченных физиологическим раствором (рис. 38). Первоначально определяли минимальную силу тока, вызывающую сокращение межпальцевых мышц. Затем силу тока уменьшали на 1 мА и подсчитывали количество импульсов, вызывающих сгибательный рефлекс. В наших опытах постоянно применялся ток длительностью 3 мсек и частотой 48 имп/мин. Для подсчета количества прошедших импульсов к аппарату присоединяли динамик, который издавал звук при прохождении каждого импульса.

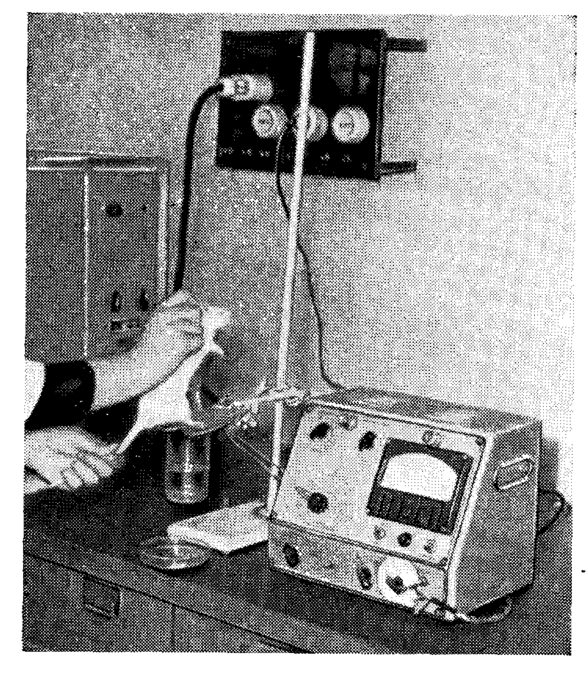


Рис. 38. Установка для определения порога нервно-мышечного возбуждения и суммации подпороговых импульсов.

Исследуя функциональное состояние нервной системы в хроническом эксперименте методом условных рефлексов и методом суммации подпороговых раздражений, Н. К. Кулагина (1961) и К. П. Стасенкова (1961) показали высокую чувствительность последнего. К. П. Стасенкова обнаружила, что при интоксикации диметилформамидом изменение суммации подпороговых раздражений наблюдается примерно в те же сроки, что и нарушение высшей нервной деятельности, регистрируемое методом условных рефлексов. Аналогичные данные получены Н. К. Кулагиной при интоксикации смесью предельных и непредельных углеводородов, триэтиламином, гидразином.

Следует отметить, что при определении способности нервной системы суммировать подпороговые раздражения даже в норме наблюдаются незначительный разброс индивидуальных показателей, а также значительные колебания у одного и того же животного (от 10 до 50 импульсов и выше), что часто затрудняет работу и трактовку полученных данных.

С. В. Сперанский (1965) с целью стабилизации данных применил определение суммации раздражений при нарастающем напряжении (суммационно-пороговый показатель).

Исследование функционального состояния центральной нервной системы другими методами

В токсикологических исследованиях для суждения о функциональном состоянии нервной системы используются многочисленные методы.

Интегральными являются методы измерения двигательной активности животных. Для указанной цели предложены многочисленные актографы. Однако последние часто не дают возможности дифференцировать передвижение животных по клетке и мышечные подергивания при нахождении животного на одном месте. Knoll предложил укреплять на пол клетки неподвижные контакты. При перемещении животное своим телом замыкает их. Кольцевой актограф для мелких животных с крестообразно расположенными фотоэлементами предложен M. Horvath (1965). Было установлено, что метод обладает высокой чувствительностью.

Мы упростили конструкцию Хорвата, заменив фотоэлементы качающимся полом с контактами (рис. 39).

Lat (1960) описал несколько другой метод для определения подвижности животных. Животное (мыши, крысы) помещали в новую обстановку — прямоугольную коробку — на 10 минут и в пределах этого промежутка экспериментатор учитывал соотношение времени нахождения в горизонтальном положении, времени стояния на задних лапах и времени почесывания. Jankes и Kršiak (1966) для мышей уменьшили время пребывания в этой коробке до одной минуты при оптимальных стандартных условиях (одинаковый размер коробки, одинаковая освещенность — 2 лк).

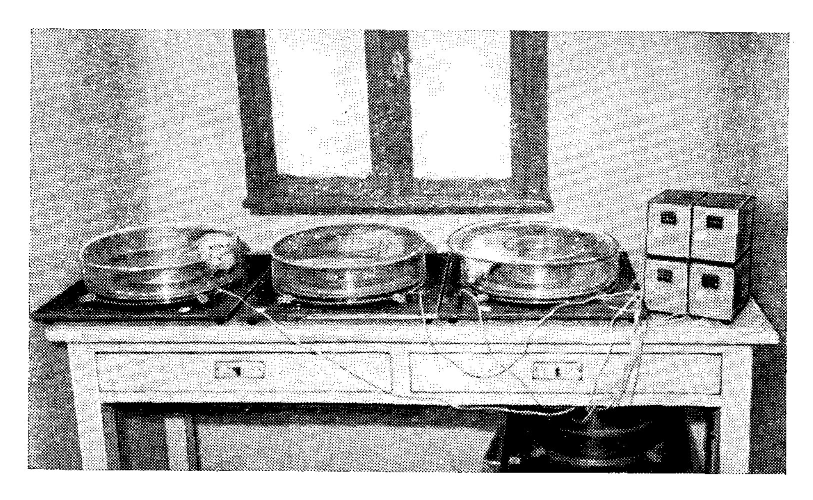


Рис. 39. Установка для записи двигательной активности крыс.

Для суждения о функциональном состоянии вегетативной нервной системы И. С. Александров применил исследование глазо-сердечного рефлекса (1951). Для собак этот метод использовал И. А. Чистяков (1958).

H. Mikiskova и A. Mikiska (1968) рекомендуют для фармакологических целей использовать метод электрокардиографии, А. К. Сгибнев и соавторы — кожно-гальванический рефлекс (см. статью данного сборника).

В. В. Закусов (1937, 1953) разработал метод определения времени рефлекса (промежуток времени от момента нанесения раздражения до сгибания конечности).

Е. И. Люблина (1948) предложила использовать методику В. В. Закусова для целей промышленной токсикологии. Ею была разработана методика измерения двух характеристик флексорного рефлекса: силы рефлекса и времени сгибания конечности кролика.

Для оценки функционального состояния нервной системы широко используется метод определения порога нервно-мышечного раздражения, т. е. минимальной силы тока, вызывающей сокращение межпальцевых мышц крыс, мышей, морских свинок при постоянной частоте и длительности импульсов. Для этой цели мы применяем электростимулятор АСМ-2, генерирующий импульсный ток прямоугольной формы определенной частоты (48 имп/мин и длительности 3 мсек). Животное помещают задними конечностями на два электрода, смоченных физиологическим раствором, и определяют минимальную силу тока, вызывающую сокращение межпальцевых мышц (И. П. Уланова, 1961; С. Н. Кремнева, 1961; Н. И. Шумская, 1961; Н. К. Кулагина, А. И. Корбакова, 1961, и др.).

При определении порога острого и хронического действия веществ методом условных рефлексов и методом определения порога электрокожного раздражения в некоторых случаях (тетрахлоралканы, бензол, α-метилстирол) чувствительность обоих методов оказалась близкой. На аналогичные данные ссылаются A. Mikiska и соавторы (1968). Метод прост, нетрудоемок и позволяет работать на большом количестве лабораторных животных.

Таким образом, в каждом случае целесообразно пользоваться несколькими методами, отражающими функциональное состояние различных отделов нервной системы.

Для установления порога острого действия следует использовать животных с выработанными условными рефлексами, а также параллельно проводить определение порога электрокожной возбудимости. Хорошие результаты дает сочетание методов определения суммации подпороговых импульсов и методов определения безусловных рефлексов.

При исследовании функционального состояния нервной системы в хроническом опыте целесообразно вырабатывать условные рефлексы, определять суммацию подпороговых раздражений, порог электрокожной возбудимости на различных этапах интоксикации (как правило, один раз в месяц).

Что касается достаточно трудоемкого метода хронаксиметрии, то у нас не создалось мнения о его высокой чувствительности.

Для оценки функции вегетативной нервной системы показано исследование состояния сердечно-сосудистой системы, электрокардиограммы и дыхания (частота), изучение кожно-гальванического рефлекса.

Вместе с тем при воздействии, например, раздражающих веществ не менее чувствительны методы определения порога раздражающего действия. При интоксикации органическими перекисями (Н. Г. Иванов, М. С. Толгская, 1964), этиленимином (Г. Н. Заева и соавторы, 1966), гексахлораном (Е. Н. Буркацкая, 1959) более чувствительными оказались специфические показатели.

В заключение следует отметить, что при изучении состояния нервной системы при интоксикации химическими веществами экспериментатор должен учитывать ряд обстоятельств при выборе методов исследования: особенности химической структуры соединения и возможные пути его действия на организм, чувствительность применяемых методов, возможность специфического действия на организм, тип воздействия — острая или хроническая интоксикация и т. д.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЯДОВ

Интоксикации многими химическими агентами сопровождаются расстройствами функции сердечно-сосудистой системы.

В настоящем разделе рассматриваются некоторые методы изучения сердечно-сосудистой системы в эксперименте на лабораторных животных (электрокардиография, регистрация уровня артериального давления и стойкость капилляров кожи) применительно к задачам промышленной токсикологии.

Методы электрокардиографии у лабораторных животных

Общепринятым методом изучения функционального состояния сердца животных является регистрация биоэлектрических процессов сердца. Электрокардиограмма является графическим изображением электрических явлений, возникающих в работающем сердце. Электрокардиограмма позволяет оценить функциональное состояние сердца (процессы возбудимости, проводимости и т. д.), нарушения вегетативной регуляции, нарушения минерального обмена. Основы электрокардиографии изложены в учебниках (Л. И Фогельсон, 1957; Г. Я. Дехтярь, 1966, и др.).

Исследование электрокардиограммы у кроликов

Патологические изменения электрокардиограммы у кроликов в большой мере напоминают изменения ее у человека. Конфигурация зубцов электрокардиограммы в норме у кролика весьма стабильна и не изменяется от действия случайных раздражителей, перемены обстановки и т. п.

По нашим данным, нормальная сердечная деятельность кролика характеризуется частым синусовым ритмом, что объясняется слабо выраженным тоническим влиянием блуждающего нерва на сердце.

Электрокардиограмма здоровых кроликов в стандартных и грудных отведениях и методика ее записи

В единичных иностранных работах приводится различная, часто довольно трудоемкая техника записи электрокардиограммы в стандартных и грудных отведениях, а также различные варианты нормы. Одни авторы записывали электрокардиограмму в обычном положении животного (Schirrmiester, 1939; Levin, Bristol, 1942), другие в положении лежа на спине. Электрод или вводили вместе с зондом в пищевод под рентгеновским контролем (Stoeker, 1940), или в виде пластинок накладывали на депилированную и смоченную специальными растворами кожу конечностей (Adhuhr, Stenstöm, 1930), или на поверхность грудной клетки (Levin, Bristol, 1942; Slapak, Hermanek, 1957). Отсуствие показателей электрокардиограммы у интактных кроликов, а также единой и в то же время простой методики ее записи диктует необходимость подробного изложения данных, накопленных по этому вопросу лабораторией токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР (А. О. Сайтанов 1960).

Запись электрокардиограммы проводили при фиксации кроликов в положении на спине. В качестве электродов применялись тонкие стальные иглы, которые вводили подкожно, 1 mv = 2 см, скорость движения пленки 7 см/сек. Запись электрокардиограммы в грудных отведениях производилась, как у человека, с учетом особенностей животного. Игольчатый электрод, соответствующий правой конечности, вводили под кожу правой верхней конечности, а электрод, соответствующий левой конечности,—в следующие точки на грудной клетке: точки I (CR) и IV — (CR_5) в месте пересечения вертикальной линии, соответственно правой и левой перед-

ней подмышечной, с горизонтальной линией, проходящей на уровне верхушки сердца; точки II и III (CR_1 и CR_4) — на пересечении соответственно правой и левой парастерналь-

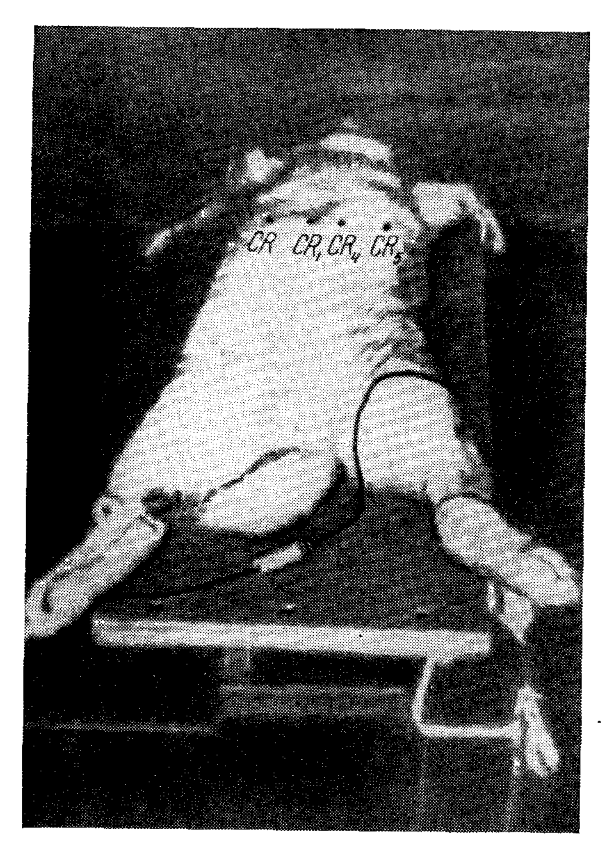


Рис. 40. Положение кролика и точки на грудной клетке, с которых производится запись электрокардиограммы.

ных линий с горизонталью, что соответствовало нижним и латеральным сторонам грудобрюшного угла (рис. 40). Выбор этих точек основывался на анатомическом строении и топографическом расположении сердца в грудной клетке кролика (П. В. Терентьев, 1952).

Сопоставляя электрокардиограммы кроликов, записанные

в положении на спине и нормальном положении, мы, так же как Massmann, Opitz (1954), убедились, что существенного отличия в электрокардиограмме нет.

Сердечный ритм и количество сердечных сокращений

Ритм сокращений сердца кролика колеблется от 180 до 330 в минуту (в среднем 250) (табл. 15). Каких-либо нарушений синусового ритма, так же как и появления других гетеротропных источников сокращения сердца, мы не наблюдали.

При очень частом ритме особенно сокращен интервал $T—P$. При увеличении длительности электрической систолы желудочков диастолический интервал $T—P$ исчезает и зубец P накладывается на нисходящее колено зубца T предыдущего комплекса. Отмечено пять типов расположения электрической оси. При нормальном типе (рис. 41, *а*) зубец R имеется во всех трех отведениях (иногда небольшой — Q_{I} или Q_{III}).

Правый тип (рис. 41, *б*) характеризуется тем, что зубец R_{I} отсуствует (или очень невелик). Зубец S_{I} (часто S_{II}) и R_{III} отчетливо выражены. Изредка вместо S_{I} встречается глубокий Q_{I}, что, возможно, связано с инверсией всего комплекса $QRST$. Часто отмечаются небольшие Q_{II} и Q_{III}. При левом типе (рис. 41, *в*) зубец R_{I} довольно резко выражен (нередко R_{II}); S_{III} хорошо выражен. Часто наблюдаются небольшие Q_{I}, иногда Q_{III}.

Вертикальный тип (рис. 41, *г*) отличается тем, что в I отведении очень низок комплекс QRS. Во II и III отведениях — умеренные зубцы R; $QRS < QRS_{\mathrm{II}} >$ или $=QRS_{\mathrm{III}}$ (иногда небольшой Q_{III}). При переходном типе (рис. 41, *д*) бывает трудно определить расположение электрической оси, так как смешиваются признаки различных типов.

По нашим данным, электрокардиограммы в грудных отведениях большей частью соответствовали типам в отведении с конечностей. На преобладание правого типа электрокардиограммы у здоровых кроликов указывают Massmann, Opitz (1954). Последние два автора определили преимущественно правый тип электрокардиограмм по индексу Шломка.

Изменение зубцов и интервалов электрокардиограммы. Зубец P лучше выражен во II и реже в III отведении. Lepeschkin (1957) считает, что зубец P в I отведении может быть низким или отрицательным, а Slapak, Hermanek (1957) всегда находили положительный зубец P во всех трех отведениях. Выраженность зубца P часто зависит от типа расположения электрической оси сердца. Зубец P в грудных отведениях был

Таблица 15

Число сердечных сокращений кролнков. продолжнтельность зубца *P*, интервала *P—Q*. длительность комплекса *QRS* и электрической систолы желудочков *QT*, высота зубцов *P*, *R*, *S* и *T* по данным ряда авторов (цит. по А. О. Сайтанову, 1960)

Авторы	Диапазон колебаний сердечных сокращений в минуту	Среднее число сердечных сокращений в минуту	Продолжительность (в секунду)				Высота зубцов в отведениях от конечностей (в mV)									
			P	*PQ*	*QRS*	*QT*	*P*			*R*			*S*		*T*	
							минимум	максимум	среднее	минимум	максимум	среднее	минимум	максимум	минимум	максимум
1. Lepeschkin (данные Mayeda)	150—365	250	0,03—0,04	0,05—0,10	0,015—0,04	0,12 (при рнтме 250 сокращений в минуту)	0,04	0,20	0,10	0	0,80	0,35	0	0,40	0,05	0,44
2. Slapak, Hermanek	187—352	200—300	0,03—0,06	0,05—0,07	0,02—0,03	0,11—0,15	0,10	0,20	0,15	0,03	0,80	—	—	—	0,02	0,40
3. Massmau, Opitz	100—240	200	0,035—0,045	0,07—0,075	0,035—0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. Adhuhr, Stenström	150—350	250	0,03—0,04	0,05—0,08	0,0175—0,03	0,10—0,15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5. Levin	174—282	225	—	0,06—0,09 (изредка до 0,1 секунды)	0,03—0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. И. П. Западнюк, В. И. Западнюк и Е. А. Захария, 1962	150—360	—	0,03—0,04	0,07	0,04	0,14	0,1	0,15	—	0,07 (R_2) 0,08 (R_3)	0,25 (R_2) 0,35 (R_3)	—	—	—	—	—
7. А. О. Сайтанов	180—330	250	0,03—0,04	0,07—0,08	0,03 -0,04	0,13—0,15	0,03	0,25	0,13	0,02	0,70	0,40	0,02	0,50	0,02	0,5

всегда положительным. Высота его колебалась от 0,03 до 0,25 mv,а ширина 0,03—0,04 секунды. Lepeschkin (1957) указывает, что в отведении от верхушки сердца зубец *P* всегда положительный и по высоте составляет от 0,1 до 0,15 *m*v. Так же как Slapak, Hermanek (1957) и др., мы не смогли установить отчетливой связи между выраженностью зубцов *P* и типом расположения электрической оси сердца.

Зубец *Q* при левом, а также нормальном типе электрокардиограммы в левых грудных отведениях и CR_4 и CR_5 отведениях имел высоту от 0,02 до 0,15 mv.

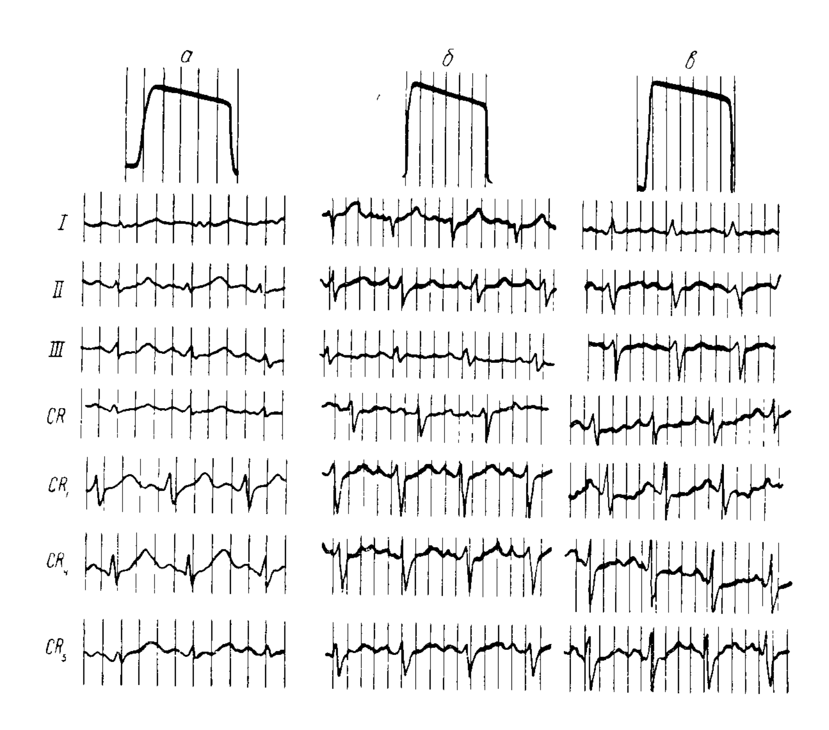
Интервал *P—Q* обычно хорошо выражен во всех отведениях и располагается изоэлектрично. Высота зубцов *QRS* была различной в каждом отведении. Соотношение зубцов *R/S* в основном зависело от направления электрической оси сердца.

Lepeschkin (1957) указывает даже на возможность спонтанной инверсии комплекса *QRST* в 1, CR_2 и CR_{III} отведениях.

Интервал *S—T* обычно располагался на изоэлектрической линии в виде прямой, реже — слегка наклонной линии. Иногда в I (при левом типе) или в III (при правом типе) отведении он был слегка выпуклым кверху и переходил в слабодвухфазный (±), или, значительно реже, в отрицательный зубец *T*.

Зубец *T* всегда положительный во II и в большинстве случаев в I отведении. В III отведении чаще, чем в I, он может значительно изменяться — снижаться, сглаживаться и даже инвертироваться в зависимости от расположения электрической оси сердца. В большинстве случаев зубец *T* был положительным во всех грудных отведениях.

При любом типе зубец *T* в III и IV позициях (CR_4 и CR_5)



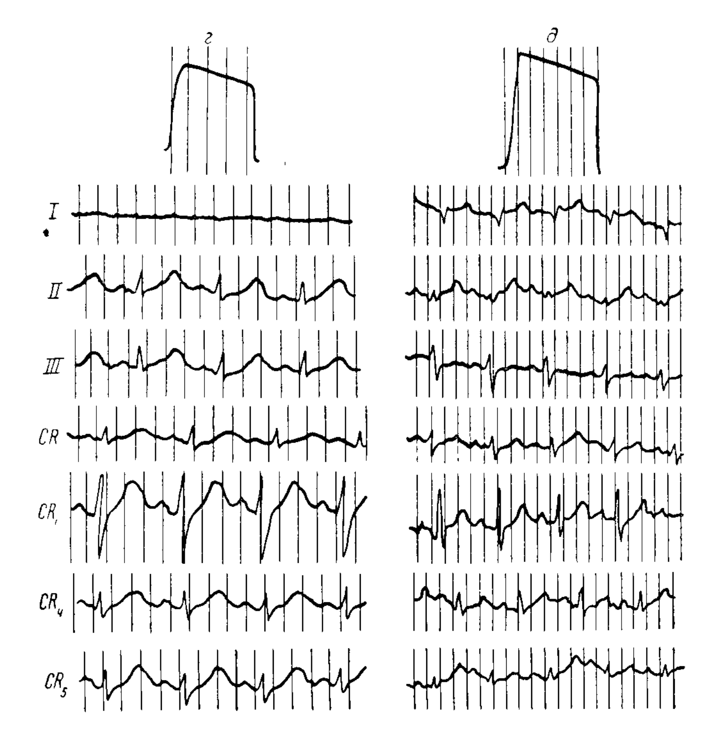


Рис. 41. Электрокардиограмма здоровых кроликов в стандартных и грудных отведениях. Варианты расположения электрической оси.

а — нормальное; *б* — правое; *в* — левое; *г* — вертикальное; *д* — смешанное.

всегда был положительным (при левом типе изредка низким). В остальных случаях стойкое снижение зубца *T* в нескольких грудных отведениях всегда указывало на патологическое изменение сердечной мышцы.

Функциональные нагрузки для кроликов

Аммиак. При помощи аммиака можно изучать обонятельно-глоточный рефлекс (вагусную брадикардию). Последний отчетливо выражен у кроликов при раздражении слизистых оболочек дыхательных путей. Сердечный компонент этого рефлекса заключается в том, что ритм (частота) сердечных сокращений непосредственно за применением раздражителя урежается с 250—300 до 60—90 сокращений в минуту, а затем постепенно (в течение 7—10 минут) восстанавливается.

Известно, что рефлекторная дуга указанного рефлекса проходит через рецепторы и афферентные волокна тройничного нерва. Перерезка обоих блуждающих нервов полностью снимает кардиальный компонент рефлекса. Регистрируя рефлекс до введения животным изучаемых веществ и после введения, можно проследить по торможению сердечно-сосудистой деятельности, как изменяется функциональное состояние рефлекторной дуги блуждающих нервов.

Методика пробы с аммиаком. В бутыль объемом 1 л помещали 0,1 мл нашатырного спирта. Пары аммиака в количестве 150 мл при помощи резиновой груши (объемом 50 мл) подавались к носу кролика в течение 5 секунд. Специальное приспособление позволяет обеспечить постоянное расстояние в 0,5 см между носовыми отверстиями животного и воронкой, из которой поступал аммиак. За 5—7 минут до опыта записы-

валась исходная электрокардиограмма кролика, фиксированного в станке (в обычном положении). Одновременно с подачей аммиака включалась запись электрокардиограммы, которая продолжалась до прекращения реакции и восстановления ритма (И. Н. Головщикова, 1960). Подобное устройство было сконструировано для крыс (И. В. Саноцкий).

Адреналин издавна используется в качестве теста для выявления состояния регуляции сердечно-сосудистой системы.

При поступлении адреналина в кровяное русло, как известно, возникает сужение сосудов и подъем артериального давления.

Повышенное артериальное давление становится раздражителем рецепторов аортальной, а также каротидной зон, что приводит к возбуждению ядер блуждающих нервов и вагусному торможению сердечно-сосудистой деятельности (брадикардия). Характер реакции на адреналин во многом зависит от предшествующего состояния сердечно-сосудистой системы и видовых особенностей организма тем более, что он повышает потребность сердечной мышцы в кислороде.

Методика пробы с адреналином. Кроликам, находящимся в станке в обычном положении, после нескольких минут (10—15), необходимых для их успокоения, вводят в краевую вену уха всегда за одинаковое время (5 минут) свежеприготовленный 0,01 % раствор адреналина в дозе 4 мкг/кг.

У здоровых животных уже с первых секунд наступает урежение ритма до 80—100 сокращений в минуту, которое достигает максимума на 2—3-й минуте. При этом наблюдаются единичные желудочковые экстрасистолы, незначительное снижение зубца P, укорочение интервала $P—Q$, увеличение зубцов R и S, а иногда заострение и увеличение зубца T. Обычно к 8—10-й минуте исходный сердечный ритм восстанавливается.

Карбохолин в дозе 2γ/кг, введенный внутривенно, вызывает у кроликов снижение артериального давления на 15—25 мм рт. ст. Депрессорная фаза длится $1—1\frac{1}{2}$ минуты и обычно сопровождается рефлекторным учащением сердечного ритма (раздражение сосудистых прессорецепторов в связи с гипотонией). Однако в 35 % случаев сердечный ритм урежается.

В первую минуту после введения карбохолина на электрокардиограмме отмечается некоторый подъем сегмента $S—T$.

Питуитрин. Я. И. Ходжай (1960, 1961) показал экспериментальный коронароспазм при внутривенном введении питуитрина. По данным И. М. Трахтенберга с соавторами (1966), острая коронарная недостаточность вызывается у кроликов путем внутривенного введения питуитрина в количестве 0,15 единиц на 1 кг веса (по данным К. А. Веселовской и А. М. Клячкиной — 0,09 ед/кг).

У здоровых кроликов до затравки питуитрин в указанных дозах вызывает кратковременный спазм коронарных сосудов с развитием характерной для острой коронарной недостаточности картины электрокардиографических изменений. Уже в первые 30 секунд после введения кролику питуитрина наблюдается резко выраженная брадикардия (частота сердечных сокращений уменьшается до 180—220 при исходной 275—300 в минуту), увеличение зубца R и особенно зубца T, который приобретал острую пикообразную форму и по величине достигал или даже превышал зубец R. На 3—5-й минуте отмечалось увеличение зубцов P и S, а зубец T заметно снижался и к 10—15-й минуте в большинстве случаев измененными оставались лишь зубцы R и T. Зубцы P и S, а также частота сердечных сокращений возвращались к этому времени к исходным величинам. К 15—20-й минуте после введения питуитрина электрокардиограмма здоровых кроликов возвращается к исходному состоянию. Оценивать приведенные выше функциональные пробы можно: 1) по величине дозы, вызывающей регистрируемый эффект; 2) по величине эффекта; 3) по времени восстановления сердечно-сосудистой деятельности.

Исследование электрокардиограммы на крысах

Изучение нарушений функций сердечно-сосудистых систем у крыс по данным электрокардиограммы имеет важное значение, так как крысы являются наиболее массовым объектом токсикологического эксперимента.

Такие исследования описаны рядом авторов (Beinfield, 1956; У. Г. Гасанов, 1957; К. М. Мохин, 1959; Lepeschkin, 1957, и др.).

Хотя ранее считали общепринятым запись электрокардиограммы у крыс в трех стандартных отведениях, мы рекомендуем пользоваться только II отведением, так как при слабых потенциалах сердца у крыс обычно регистрируются мышечные токи (Mikiska и др.). Электрокардиограмма у крыс дает возможность регистрировать частоту сердца, измерять интервалы. Лучшие результаты некоторые авторы получали при грудном отведении. И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария (1962) рекомендуют записывать электрокардиограммы у крыс под наркозом (у ненаркотизированных

животных из-за дрожания мышц возникают неустранимые помехи, искажающие зубцы электрокардиограмы). Однако наркоз является чрезвычайной нагрузкой и, как правило, не пригоден для проведения функциональных проб на регуляцию сердечно-сосудистой системы. Существенное значение для записи электрокардиограммы имеет фиксация крыс. Крыс фиксируют или в домике с пластинчатыми электродами, или в домике с отверстиями в боковой стенке для введения электродов, или подвешивают в специальном гамаке (Б. А. Курляндский), или привязывают за конечности к станку в положении на животе и другими способами. Особое значение имеет фиксация животных при проведении функциональных нагрузок.

Методика съемки. Съемку электрокардиограммы мы производили при усилении 1 mv = 1 см и скорости движения пленки 100 мм/сек в трех стандартных отведениях. Крыс фиксировали бинтами за конечности к станку в положении на животе. Электродами служили тонкие стальные иглы, вводимые под кожу конечностей. Электрокардиограмму записывали после нескольких (5—7) минут, необходимых для успокоения животных. Частота сердечных сокращений у крыс, по данным ряда авторов, различна.

Литературные и собственные данные о величине интервалов и высоте зубцов электрокардиограммы у крыс приведены в табл. 16.

При ряде острых интоксикаций промышленными ядами (нитро- и аминопроизводные ароматического ряда, гексаметиленимин, изопропиламин и др.) изменения электрокардиограммы у крыс характеризуются урежением ритма сердечных сокращений, увеличением вольтажа зубцов и появлением экстрасистолий. Наиболее часты также изменения зубца *T* и конечной части комплекса *QRST* (Г. Н. Заева, М. С. Толгская, 1965; Г. Н. Заева, Л. А. Тимофиевская, К. П. Стасенкова, 1966).

Таблица 16

Число сердечных сокращений крыс, продолжительность зубца *P*, интервала *P—Q*, длительность комплекса *QRS* и электрической систолы желудочков *QT*, высота зубцов *P*, *R*, *S* и *T* по данным ряда авторов

Автор	Диапазон колебаний сердечных сокращений в минуту	Среднее число сердечных сокращений в минуту	Продолжительность (в секундах)				Высота зубцов в отведениях от конечности (в mv)											
			P	*PQ*	*QRS*	*QT*	*P*			*R*			*S*			*T*		
							минимум	максимум	среднее	минимум	максимум	среднее	минимум	максимум	среднее	минимум	максимум	среднее
И. П. Западнюк, В. И. Западнюк и Е. А. Захария (1962)	—	—	0,01—0,02	0,04—0,05	0,01—0,025	0,07—0,01	0,1	0,35	0,225	0,3	0,85	0,57	—	—	—	0,3	0,7	
И. В. Комиссарова (1956) (цит. по И. П. Западнюк, 1962)	286—500																	
Р. Цукерман (цит. по И. П. Западнюк, 1962)	400—430																	
Г. Н. Заева	420—540	480	0,01	0,04	0,01	0,07	0,1	0,1	—	$0,3R_2$ $0,1R_3$	$0,5R_2$ $0,4R_3$	— —	— —	— —	— —	0,07	0,2	— —

Широко используемой функциональной нагрузкой на сердечно-сосудистую систему крыс является ортостатическая проба.

Ортостатическая проба заключается в быстром переводе фиксированного на специальном столике животного в вертикальное положение, в котором оно находится 3 минуты, после чего животное вновь возвращается в горизонтальное положение. Электрокардиограмма записывается в исходном положении в первые 10—15 секунд, а затем в конце 1, 2 и 3-й минуты пребывания в вертикальном положении. Для исследования восстановительного периода после возвращения животного в горизонтальное положение электрокардиограмма записывается каждые 30 секунд в течение 3 минут. По данным И. М. Трахтенберга с соавторами (1966), у крыс при переводе в вертикальное положение частота сердечных сокращений в большинстве случаев (в 8 из 10) в первые 15 секунд урежалась, а затем увеличивалась на 20—30 в минуту. При переводе животного из вертикального положения в горизонтальное происходило быстрое возвращение частоты сердечных сокращений к исходному состоянию. Длительность восстановления составляла 20—40 секунд. Наряду с изменением частоты сердечных сокращений в вертикальном положении отмечались изменения на электрокардиограмме, связанные, по-видимому, с изменением положения электрической оси сердца. Эти изменения выражались в увеличении зубцов электрокардиограммы в III отведении и снижении их в I отведении.

Для оценки вегетативной регуляции сердечно-сосудистой деятельности В. Н. Тугаринова, С. В. Елисеева, Л. С. Андреева (1967) рекомендуют следующие функциональные пробы: нагрузка эрготоксином (блокирует α-адренорецепторы), атропином (блокирует М-холинорецепторы), прозерином (обладает антихолин-эстеразной активностью) и эфедрином (обладает антиаминооксидазной активностью) при введении под кожу.

Эрготоксин в дозе 0,5 мг/кг (0,5 мл 0,1 % раствора) вызывал у здоровых крыс отчетливое урежение сердечных сокращений, которое достигало максимума к 30-й минуте. Восстановление ритма начиналось с 45 минут, а к 75-й минуте возвращалось к исходному.

Атропин в дозе 50 мг/кг (2,5 мл 2 % раствора) вызывал учащение сердечных сокращений через 30 минут, достоверное восстановление сердечного ритма наступало лишь через 2 часа.

Прозерин в дозе 0,125 мг/кг (2,5 мл 0,005 % раствора) оказывал отрицательное хронотропное действие через 45 минут, восстановление наступало через 1 час 30 минут.

Эфедрин в дозе 25 мг/кг (5 мл 0,5 % раствора) оказывал адреналиноподобное действие на 60 % животных; в 25 % случаев наблюдалось урежение ритма; в 15 % случаев эффекта не было.

Подобный характер реакции, по мнению Вотчала, связан с большими колебаниями индивидуальной чувствительности к эфедрину. Аналогичные нагрузки применялись Б. Б. Вознесенским, С. В. Суворовым, Л. А. Томилиной (1965), В. Н. Тугариновой и соавторами (1965) и др.

Методы изучения артериального давления у лабораторных животных

Испытывая и сравнивая между собой различные методы на основании данных литературы и опыта лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР, мы остановимся на двух методах некровавого определения артериального давления: на одном — для кролика, собаки и на другом — для крыс.

В настоящее время получают широкое распространение методы катетеризации полостей сердца.

Метод определения артериального давления у кроликов был предложен в 1811 г. ван Леерсумом. Выведение сонной артерии в кожную муфту по способу ван Леерсума позволяет у кроликов изучать изменения артериального давления в хроническом опыте. В. М. Чернов (1947) и др. видоизменили и усовершенствовали этот метод в направлении графической регистрации артериального давления.

Оба метода проверены практически на большом количестве определений при воздействии разнообразных ядов (Ю. П. Санина, К. П. Стасенкова, С. Н. Кремнева, И. П. Уланова и др.).

В опыт подбирают здоровых молодых кроликов (вес 1500—2000 г, возраст 2—5 месяцев). Особое внимание следует при этом обращать на состояние сердечно-сосудистой системы. Иногда встречаются животные с выраженной аритмией, тахикардией. Такие животные не годятся для исследований.

Прежде чем приступить к опытам, у кроликов хирургическим способом выводится в кожный лоскут по ван Леерсуму

общая сонная артерия. Длина кожного лоскута должна быть не менее 7—8 см. Операция обычно переносится легко.

Как показал В. М. Чернов (1947), собаки после выведения общей сонной артерии в кожный лоскут уже через 12—14 дней были пригодны для проведения опытов. Чтобы предотвратить разрывы сонной артерии (лапами животных), В. М. Чернов покрывал повязку на шее отрезком из брезента или мягкой кожи. Е. И. Люблина рекомендует в кожный лоскут после операции вводить кролику 100 000 ЕД пенициллина. Через 3 недели после операции на кроликах можно производить опыты.

Принцип метода состоит в следующем: определение артериального давления производят прибором, состоящим из сфигмоманометра и соединенного с ним металлического онкографа (В. М. Чернов, 1947) с вложенными в него пальцами от резиновых перчаток. Настоящий метод позволяет определять только максимальное артериальное давление. Величина систолического давления, определяемого с помощью данного метода, колеблется в пределах 105—120 мм рт. ст. Метод особенно удобен при длительных наблюдениях за артериальным давлением.

Более простым, однако менее стабильным методом определения артериального давления у кроликов является пережатие центральной артерии уха прозрачной пневматической грушей. Система соединена с манометром. Артериальное давление регистрируется по моменту первого проскока «ниточки» крови (определяется на просвет) при постепенном уменьшении давления на прижатое ухо. Метод Гранта — Ротшильда удовлетворительно описан в книге «Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований» (ред. Н. В. Лазарев. Л., 1954).

Определение артериального давления у крыс производится при помощи хвостового плетизмографа (рис. 42). Метод плетизмографии широко применяется как в клинике, так и в эксперименте. Он позволяет выявить иногда самые незначительные изменения кровенаполнения органа. На наш взгляд, белые крысы являются удобным объектом для измерения артериального давления в хроническом опыте. Метод определения систолического артериального давления в хвостовой вене был предложен впервые в 1938 г. Wilson и Byron (1938). Williams, Harrison и Grollmann (1939) видоизменили его, дополнив фотоэлектрозаписывающим устройством.

Опыты показали (Ц. Н. Янковская, 1958), что для продолжительных исследований этот прибор малопригоден, так как

плетизмограф (с помещенным в нем хвостом), соприкасаясь с внешним воздухом, быстро охлаждается; нагревающая камеру спираль не обеспечивает равномерного нагревания крысы. Ряд авторов (Ц. Н. Янковская, 1958; А. Х. Коган, 1959) предложили прибор, в котором плетизмограф вмонтирован внутри водяной бани, где поддерживается постоянная температура.

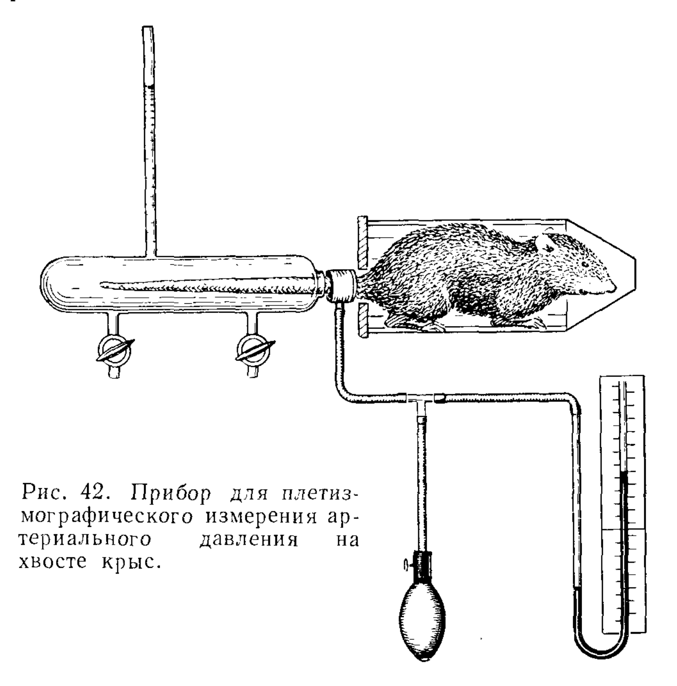


Рис. 42. Прибор для плетизмографического измерения артериального давления на хвосте крыс.

Принцип работы прибора. Измерение артериального давления целесообразно проводить двумя способами. При наличии отчетливой пульсации можно измерить максимальное артериальное давление по принципу Рива — Роччи (пережимают хвост до прекращения пульсации). Показания ртутного манометра в момент прекращения и в момент возобновления пульсации дают величину максимального артериального давления.

Второй способ измерения применяется, если пульсация в водяном манометре выражена неотчетливо. В этом случае давление в манжетке и ртутном манометре должно быть выше систолического, тогда в хвосте прекращается циркуляция крови. При постепенном выпускании воздуха из системы остановленный путем пережатия хвоста приток крови возобнов-

ляется, что сопровождается повышением уровня жидкости в трубке плетизмографа. В момент начала подъема этого уровня ртутный манометр показывает величину систолического артериального давления. В процессе тренировки уровень артериального давления снижается и после нескольких опытов стабилизируется.

На 44 интактных крысах Ц. Н. Янковская (1958) сопоставила показания измерений в плетизмографе и в остром опыте (сонной артерии) кровавым путем под эфирным наркозом. Из данных табл. 17 разница давления, измеренного этими способами, в среднем составляет 12 мм рт. ст. Однако если при применении плетизмографа пределы колебаний давления крови у всех животных невелики, то при кровавом методе они огромны, что говорит о явном преимуществе плетизмографического метода измерения артериального давления у животных. На 183 крысах Ц. Н. Янковской были получены данные об уровне их нормального артериального давления. Эти данные приведены в табл. 18, из которой видно, что у большинства крыс артериальное давление равно 100—130 мм рт. ст. Это соответствует литературным данным (А. Х. Коган, 1959, и др.).

Таблица 17

Средний уровень максимального артериального давления у крыс, измеренного в плетизмографе и остром опыте (кровавым путем)

Всего животных	В плетизмографе		В остром опыте	
	средний уровень	пределы колебаний	средний уровень	пределы колебаний
44	114	86—128	102	58—140

Таблица 18

Распределение подопытных крыс по уровню максимального давления

Всего животных	Уровень артериального давления в мм рт. ст.						Средний уровень в мм рт. ст.
	80—90	91—100	101—110	111—120	121—130	131—140	
183 100%	7 4%	18 10%	24 13%	74 40%	44 24%	16 9%	113 —

В последнее время в лабораторной практике нашел применение прибор, сконструированный А. Х. Коганом (1959). Этот аппарат отличается от предложенных другими авторами (Wilson, 1938; Williams, 1938) наличием комплекса плетизмографических измерителей. Артериальное систолическое давление у крыс в норме, установленное указанным аппаратом, как правило, колеблется от 70 до 110 мм рт. ст. Эти цифры несколько занижены, так как автор при работе с прибором подогревает воду в плетизмографе по температуры 36°, а не до 41—42°, как рекомендует Ц. Н. Янковская и др.

Некоторые авторы предлагают использовать плетизмометрический аппарат Бирома и Вильсона, дополненный фотоэлектрозаписывающим устройством для регистрации систолического и диастолического давления. Наряду с плетизмометрической методикой описаны осциллоскопическая (Dodson и Mackanes, 1957), осциллографическая (А. М. Иваницкий, 1961) и другие методики (В. С. Алексеев, 1957; А. И. Булавинцева, 1952). Колебания давления в течение одного опыта у интактных крыс, как правило, равны 10 мм рт. ст. (по данным наших измерений). Межсуточные колебания артериального давления у интактных крыс обычно составляли 15±5 мм рт. ст., довольно редко доходили до 25±10 мм рт. ст.

Сравнение полученных нами показателей нормального систолического давления в хвостовой артерии у крыс с показателями, установленными кровавым путем в бедренной и сонной артериях различными авторами, показало, что во многих случаях они совпадают.

Функциональные нагрузки. Для оценки состояния сердечно-сосудистой системы отдельные авторы (Г. П. Конради, А. Д. Слоним, В. С. Фарфель, 1955, и др.) используют различные функциональные нагрузки, например ортостатическую пробу.

Е. И. Люблина (1957) предложила впервые ортостатическую пробу в опытах на кроликах в качестве показателя хронического действия промышленных ядов. Как показывают наблюдения Е. И. Люблиной, артериальное давление в вертикальном положении в общем снижалось больше чем на 10%, у отдельных кроликов — на 40—50%. Иногда артериальное давление падало настолько резко, что пульс в сонной артерии не ощущался. Т. М. Осина (1959) применила ортостатическую пробу для выявления действия паров пропилпропионата и бутилацетата на функцию сердечно-сосудистой системы. Некоторые авторы (М. Л. Рылова, 1964; Ц. Н. Янковская, 1958) рекомендуют использовать предварительное

проведение дополнительных холодовых (при температуре от +2 до +6° в течение 2 часов) и тепловых (при температуре +50° в течение 5—10 минут) нагрузок.

В ряде случаев используются симпато- и парасимпатомиметические фармакологические средства (адреналин, атропин и др.).

Другие методы исследования сердца и сосудов. Среди методов исследования сердечно-сосудистой системы важное место занимает определение скорости кровотока и объема циркулирующей крови, реография и реокардиография как в эксперименте на животных, так и в клинической практике (В. А. Сонкина, 1966). Реография как метод, основанный на регистрации сопротивления тканей, изменяющегося при колебаниях кровотока, имеет ряд преимуществ по сравнению с другими бескровными методами исследования гемодинамики. Принцип метода заключается в регистрации графических показателей, отражающих изменения электрического сопротивления тканей и органов, находящихся между двумя электродами, в зависимости от величины их кровенаполнения. Реография позволяет диагностировать состояние сердца, тонус сосудов, скорость распространения пульсовой волны, артериальное давление.

Для более углубленной оценки функционального исследования сердца может быть рекомендован векторкардиографический метод исследования (М. М. Деев, 1966).

В последние годы разрабатываются также многоканальные усилители, предназначенные для изучения пространственной динамики биопотенциалов сердца, т. е. электрокардиотопография (Р. З. Амиров, 1966, и др.).

Методика определения стойкости капилляров кожи

Интоксикации многими промышленными ядами сопровождаются сосудистыми расстройствами с нарушением стойкости капилляров кожи.

Под стойкостью капилляров подразумевается способность их противостоять искусственно вызываемым травмам, достаточным по своей силе для разрушения капилляров (О. К. Шапошников, 1957).

Нельзя смешивать понятие о стойкости капилляров кожи с другим свойством сосудистой стенки — проницаемостью (А. Ф. Александров, 1964). Определение проницаемости дает Б. Н. Могильницкий, который писал, что проницаемость — это функционально-биологическое состояние элементов соединительной ткани и межуточного вещества сосудов, обусловливающее поступление веществ в клетку из среды и из клетки в среду.

Из существующих методов определения проницаемости сосудистой стенки наиболее объективными, на наш взгляд, являются методы определения проницаемости с помощью меченых атомов (И. И. Исламов, 1954) и количества азота белка во влаге передней камеры глаза (А. А. Рубановская, 1960).

К причинам, обусловливающим снижение стойкости капилляров, Стефан относил прямое повреждение эндотелиальных клеток капиллярной стенки, а также изменение просвета капилляра при повреждениях симпатического нерва. В значительной степени нарушение стойкости сосудов связано с гиперергической реакцией активных элементов соединительной ткани (Б. П. Шехонин, 1949).

Н. М. Вейсман (1926) приходит к выводу, что кожные кровоизлияния являются результатом ранимости сосудов в связи с изменением их стенок. Изменение стойкости капилляров в основном, очевидно, связано с состоянием аргирофильного вещества сосудистой стенки (А. И. Смирнова-Замкова, 1946; Б. Н. Могильницкий, 1949; В. П. Шехонин, 1949; Б. Ф. Шаган, Б. Г. Мерсон, 1960).

Первоначально методики определения стойкости капилляров применялись при диагностике атипичных форм скарлатины. Сюда относятся пробы со щипком (П. К. Кожевников), с уколом иглой (Koch), пробы М. П. Кончаловского, Румпеля — Лееде, основанные на создании венозного застоя с помощью жгута или манжетки на 10—15 минут под контролем пульса. Heht вызывал геморрагии, создавая отрицательное давление с помощью водоструйного насоса под контролем ртутного манометра (цит. по А. Ф. Александрову, 1964).

Впоследствии в 1932 г. эта проба была модифицирована А. И. Нестеровым, который предложил дозировать отрицательное давление, установил 2-минутную экспозицию и средние нормы отрицательного давления для здоровых людей (230—240 мм рт. ст.). Пробу оценивали по трем основным степеням в зависимости от числа и выраженности геморрагий. Появление петехий А. И. Нестеров объяснял разрывом сосудистой стенки (рис. 43, 44).

Изложенный материал показывает, что существующие методы определения стойкости капилляров кожи в основном отработаны в клинической практике, использование их в условиях эксперимента весьма ограниченно. В связи с этим мы провели определения стойкости капилляров кожи на

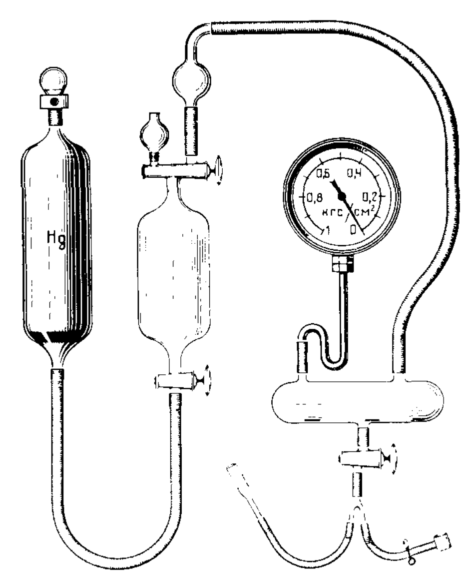


Рис. 43. Модификация прибора Нестерова применительно к работе на лабораторных животных.

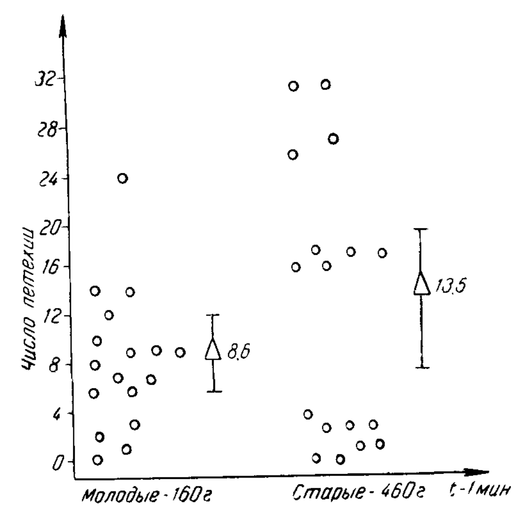


Рис. 44. Различие в количестве петехий у крыс разных возрастных групп (первая группа — 160 г, вторая группа — 460 г).

500 крысах с целью выявления оптимальных условий опыта и установления физиологического состояния стойкости капилляров кожи.

Для проведения указанных исследований были внесены некоторые изменения в устройство аппарата Нестерова (рис. 43):

1. При работе используется только одна кювета аппарата.

2. Резиновая трубка, соединяющая вторую кювету с вакуумметром, пережимается зажимом (для уменьшения сопротивления в системе).

3. Рабочая кювета на серийном аппарате замещается стеклянной трубкой с расширенным наконечником (диаметр 8 мм) и закругленным краем. Трубка применяется площадью 5 мм² для удобства работы на животных.

За день до начала исследования животным на строго определенном месте — сбоку, ближе к задней конечности, тщательно удаляют шерсть с участка кожи площадью 1,5×1,5 см. Определение стойкости капилляров производится на фиксированных животных. Участок кожи, предназначенный для проведения исследования, смазывают вазелином для создания лучшей герметизации.

В опытах с использованием половозрелых крыс обоего пола весом 250 г было найдено, что оптимальными условиями проведения опыта являются отрицательное давление, равное 266 мм рт. ст., и одноминутная экспозиция. Количество петехий, образовавшихся при данных условиях опыта, колебалось от 0 до 10 при средней величине, равной 4,2. Учитывались петехии, различные по величине, но с выраженной яркостью окраски. Эта величина была принята нами за норму.

Так как время рассасывания геморрагий также характеризует состояние стойкости капилляров, мы поставили серию опытов с целью его определения. Проведенные исследования показали, что время рассасывания петехий у контрольных крыс равняется 6—8 часам.

Было отмечено, что стойкость капилляров кожи изменяется с увеличением возраста животных. Так, при обследовании двух групп половозрелых крыс весом 160 и 460 г (по 30 животных в каждой группе) было обнаружено, что у более старых крыс стойкость капилляров кожи ниже, чем у молодых, что выразилось в образовании большего числа петехий (средние величины: первая группа — 8,6; вторая группа — 13,5) (рис. 44).

Метод определения стойкости капилляров с помощью модифицированного аппарата Нестерова был использован нами при обследовании крыс, подвергавшихся острому и хроничe-

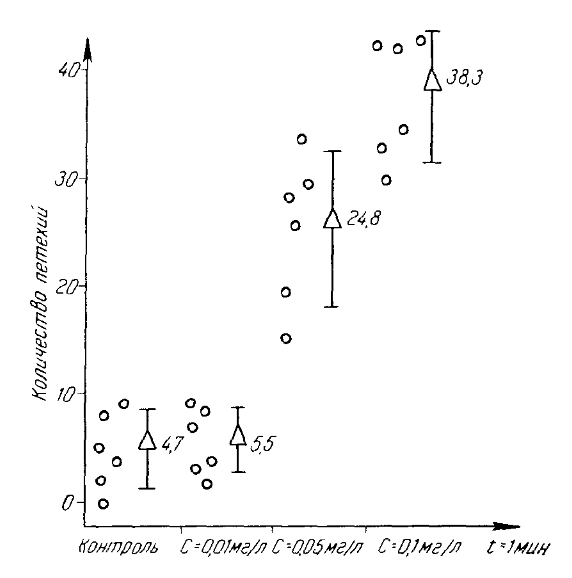


Рис. 45. Количество петехий, образовавшихся у крыс при острой интоксикации пентадециламином на уровне порога однократного действия.

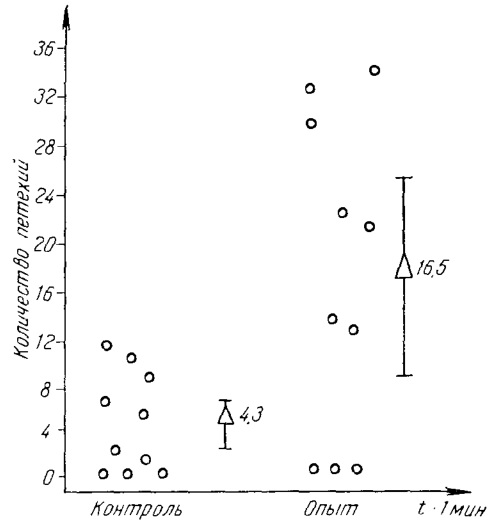


Рис. 46. Количество петехий, образовавшихся у крыс при хроническом воздействии паров формамида.

скому воздействию профессиональных ядов, оказывающих избирательное действие на сосудистую систему. К ним относятся этиленимин, пиперидин, гексаметиленимин, формамид, пентадециламин.

На уровне порога однократного действия пентадециламина (0,05 мг/л) количество петехий было увеличено до 25 при 4 петехиях в контроле (рис. 45). При воздействии формамида у подопытной группы животных средняя величина петехий в 4 раза превосходила количество петехий в контроле (рис. 46). Время рассасывания петехий, образовавшихся у крыс, подвергавшихся воздействию перечисленными выше ядами, увеличивалось до 18—20 часов.

Результаты наших исследований позволили предложить классификацию изменения стойкости капилляров кожи у крыс: I степень — 0 — 10 (нормальная реакция); II степень — 11—24 петехий; III степень — сливные кровоизлияния.

Две последние (II и III) степени классификации характеризуют патологическое состояние стенок капилляров.

Предлагаемая нами методика проста, доступна и может быть рекомендована при изучении токсических свойств ядов с избирательным действием на стенки сосудов на разных уровнях.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Всестороннее изучение патогенеза поражений печени под действием конкретного токсического агента требует широкого исследования различных ее функций, позволяющих проследить за развитием нарушений на разных стадиях патологического процесса. Однако в большинстве исследований, имеющих целью выявление порогового действия химических соединений, можно ограничиться лишь индикацией наиболее ранних признаков нарушения функций печени. Поэтому критериями ценности тестов, используемых в токсикологии, являются в первую очередь чувствительность и специфичность последних. Кроме того, необходимо учитывать, что далеко не все описанные в литературе методики являются применимыми, главным образом ввиду того, что получение у лабораторных животных необходимого для анализа количества биологических субстратов не всегда возможно.

В современной литературе имеются лишь единичные сообщения, в которых сделана попытка дать анализ сравнительной ценности тестов функций печени применительно к зада-

чам токсикометрии (В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, 1964; И. П. Уланова, 1965; Е. Я. Арзяева, 1966; И. П. Уланова, Г. И. Позднякова, 1967).

Настоящий раздел представляет собой обзор наиболее перспективных, по современным экспериментальным данным, методических приемов исследования основных функциональных отправлений, выполняемых печенью.

Исследование процессов синтеза белка в печени основывается на определении включения меченых свободных аминокислот в состав белковых молекул (И. П. Уланова, П. Г. Гаркави, 1961), а также на выявлении нарушений нормальных соотношений между отдельными белковыми фракциями. Для этой цели может быть использован метод электрофореза. При условии одновременного определения общего белка сыворотки крови этот метод позволяет выражать данные протеинограммы не в относительных, а в абсолютных величинах (в грамм-процентах), что дает более объективную информацию о содержании отдельных белковых фракций.

Пробы на лабильность или коллоидоустойчивость белков (цинковая, тимоловая, коагуляционная лента Вельтмана), обладая несомненными преимуществами в отношении быстроты и доступности, в свсем большинстве не дают точного представления о содержании отдельных белковых фракций. Тем не менее при отсутствии технических условий проведения электрофореза использование указанных тестов позволяет судить о процессах синтеза белков сыворотки.

Особо следует отметить цинковую пробу, котсрая дает возможность количественной оценки изменений содержания гамма-глобулинов в сыворотке крови. В экспериментальных условиях было проведено сопоставление результатов цинковой пробы с данными паралелльного определения содержания гамма-глобулинов в грамм-процентах, которое вычислялось на основании соотношения фракций в протеинограмме (в процентах) и количества общего белка. Вычисление коэффициента корреляции показало, что между интенсивностью реакции помутнения (ЕМ) и количеством гамма-глобулинов (в грамм-процентах) существует статистически достоверная прямая зависимость, $P<0{,}001$ (В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, 1967а). Изменения в содержании общего белка происходят лишь при относительно тяжелых поражениях печени (И. П. Уланова, 1965). Сдвиги в соотношении белксвых фракций также соответствуют выраженным поражениям печеночной паренхимы (Е. А. Арзяева, 1966; И. А. Анкудинова, В. Н. Тугаринова, А. Н. Новикова, 1967).

Кроме того, следует учитывать, что описанные выше методы не являются полностью специфичными, так как сдвиги в соотношении белковых фракций могут быть связаны не только с поражениями печени.

Одним из частных случаев нарушения синтетической функции печени является уменьшение образования протромбина. Наиболее распространенным тестом, позволяющим судить о состоянии протромбинового компонента, является проба Квика на свертываемость крови в различных ее модификациях (Д. П. Боровская, С. Д. Ровинская, 1948; В. Н. Туголуков, 1955, и др.). Проведение этого теста на фоне экзогенного поступления витамина К, недостаточность всасываемости которого из желудочно-кишечного тракта может влиять на синтез протромбина, делает его более специфичным в отношении печени.

Следует, однако, помнить, что нарушение синтеза протромбина происходит лишь при далеко зашедших поражениях печеночной паренхимы.

Для повышения чувствительности пробы Квика Л. Т. Марголина и Б. В. Лютровник (1958) рекомендуют проводить определение протромбина в крови, разведенной физиологическим раствором. Указанным методом в хроническом эксперименте при воздействии хлорэнантовой кислоты выявлены нарушения функции печени без морфологических изменений ее структуры (И. П. Уланова, П. Г. Гаркави, Л. М. Самойлова, 1961).

Из числа проб, предложенных для контроля процессов промежуточного белкового обмена, осуществляемого печенью, обнаружению «скрытых» поражений могут служить лишь нагрузки некоторыми аминокислотами.

Функциональный резерв печени в отношении обычного уровня процессов дезаминирования и синтеза мочевины настолько велик, что они выполняются в полном объеме даже при сохранении всего лишь 20—10% неповрежденной паренхимы (А. Фишер, 1961; Wappler; Справочник по клиническим и функциональным исследованиям, 1966). Поэтому как количественное определение содержания аминокислот в крови химическим путем, так и качественное их определение в крови и моче с помощью метода хроматографии позволяет установить изменения лишь при далеко зашедших поражениях паренхимы. В то же время, по данным зарубежных авторов, нагрузки такими соединениями, как гликокол и п-оксифенилпировиноградная кислота (тестацид), часто позволяют открыть наличие начальных гепатоцеллюлярных поражений (Felix,

Teske, 1941; Beckmann, 1957; Wappler, 1966; Behrendt, 1962). Обычно избыточное поступление указанных аминокислот в организм не ведет к гипераминоацидемии и гипераминоацидурии. Однако при поражении печеночной паренхимы окисление п-оксифенилпировиноградной кислоты и связывание гликокола в парные соединения замедляются.

Известные к настоящему времени пробы липоидной функции печени (определение общего и эстерифицированного холестерина в крови) позволяют выявить ее изменения лишь при тяжелых поражениях паренхимы.

За последнее время довольно широкое распространение получило исследование липопротеидов крови с помощью липопротеидограмм. Изменения соотношений отдельных фракций липопротеидов, происходящие в основном за счет повышения β-липопротеидов, отражают в той или иной мере функциональное состояние печени.

Опытами И. А. Анкудиновой, В. Н. Тугариновой и М. С. Пузицкой (1967) было установлено наличие прямой корреляции ($P < 0{,}01$) между данными липопротеидограммы и пробы на β-липопротеиды крови (Burstein, Samaille, 1956). Это дает основание при изучении последних ограничиться постановкой указанной пробы, что является значительно менее трудоемким.

По данным И. П. Улановой (1965), достаточно высокой чувствительностью обладает тест на содержание (накопление) липидов в паренхиме печени. Однако постановка пробы связана с забоем животных.

Среди методов исследования углеводной функции печени главное значение принадлежит нагрузке галактозой, метаболизм которой осуществляется исключительно печенью.

Наиболее чувствительной и дающей хорошо воспроизводимые результаты является модификация пробы, предусматривающая внутривенное введение галактозы и ферментацию образцов крови дрожжами перед титрометрическим определением ее восстанавливающих свойств (В. Е. Миклашевский, В. Н. Тугаринова, 1962). Для оценки результатов пробы целесообразно использовать так называемую константу удаления галактозы (КУГ[1]), что дает возможность ограничиваться взятием лишь двух образцов крови после нагрузки (В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, Г. Г. Скобцева, 1967).

[1] КУГ соответствует относительной части общего количества имеющейся в крови галактозы (в процентах), удаляемой за одну минуту.

Немецкие авторы рекомендуют в качестве чувствительного теста, пригодного для обнаружения легких степеней нарушения гликогеногенической функции печени, нагрузку молочной кислотой (Wappler. Справочник по клиническим функциональным исследованиям, 1966).

Применяемое в ряде токсикологических исследований определение содержания гликогена в печени, по данным И. П. Улановой (1961) и Т. К. Никитенко (1966), позволяет обнаружить изменения лишь при действии высоких концентраций токсических веществ.

Все способы исследования пигментной функции печени имеют своей целью определение способности печени к превращению и экскреции пигментов. Следует отметить, что при легких, начальных формах гепатопатий накопление в крови билирубина, как правило, не встречается. Еще меньшее значение имеет определение билирубина в моче, так как билирубинурия является не ранним признаком поражения печени, а скорее симптомом далеко зашедшего процесса.

В отличие от билирубинурии уробилиногенурия представляет относительно тонкий показатель патологии печени, позволяющий обнаружить даже легкие паренхиматозные поражения (токсические, застойные и т. д.). Следует, правда, иметь в виду, что уробилиногенурия появляется при гемолизе in vivo и усилении гнилостных процессов в кишечнике, однако в подобных случаях это явление обычно сопровождается повышенным выведением стеркобилина. По данным ряда авторов (Zieve, Hill, 1955; Hanson, 1956), еще более чувствительным показателем состояния пигментной функции печени является содержание копропорфирина в моче.

Для оценки экскреторной функции печени используется целый ряд тестов, основанных на нагрузке веществами, удаляемыми из системы общего кровотока с желчью. Из числа таких проб наибольшее распространение имеют нагрузки красителями: бенгальским розовым (I^{131}) и ТБСФ (динатриевая соль фенолтетрабромфталеина).

Наиболее ценной пробой является внутривенная нагрузка ТБСФ[1]. В работах, опубликованных в 50—60-х годах, этот тест рекомендуется как наиболее чувствительный и точный, позволяющий выявить даже начальные стадии поражения печеночной паренхимы (Ricketts, 1951; Pantlen, Ruppel, 1954; Zieve, Hill, 1955; И. М. Джаксон, 1963).

[1] Фирменные названия — бромфталеин (Merck), бромсульфан (Berlin-chemie).

При интоксикации самыми различными химическими веществами проба с нагрузкой ТБСФ позволяет установить нарушения деятельности печени раньше или при меньших дозах, чем другие функциональные тесты. Это было показано в опытах с интоксикацией стронцием (Ю. Б. Шафиров, 1965), фосфором (Casals, Olitsky, 1946), четыреххлористым углеродом (И. П. Уланова, 1965; В. Е. Миклашевский, В. Н. Тугаринова, И. А. Анкудинова, А. Н. Новикова, Г. А. Савоничева, Г. Г. Скобцова, 1967), хлористым метилом (Г. Ю. Евтушенко, 1966), хлорированными и фторированными производными этана (Т. К. Никитенко, 1966).

Данные о высокой чувствительности этой пробы подтверждаются также в опытах с интоксикацией трихлорэтиленом и хлороформом (Richards, Bachmann, 1955).

При интоксикации галогенопроизводными углеводородов было показано (табл. 19), что угнетение экскреторной функции печени возникает ранее, чем структурные изменения ее паренхимы (Kutob, Plaa, 1962; Т. К. Никитенко, 1966). Кроме того, установлено, что изменение количественных показателей пробы ТБСФ находится в прямой корреляции с тяжестью патологического поражения печени (В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, 1966, 1967б).

Нагрузка бенгальским розовым, меченным по I^{131}, по заключению отдельных авторов, применявших его в токсикологических исследованиях, является достаточно высокочувствительным тестом (М. И. Смирнова, 1961; Г. Н. Красовский, В. Л. Анохин, Е. Н. Кутепов, Н. В. Русаков, И. Н. Скачкова, 1967). Однако эта проба может использоваться лишь в некоторых научных учреждениях, располагающих необходимыми условиями для работы с радиоактивными изотопами. Кроме того, данные М. С. Kleckner (1960) и Е. Н. Кутепова (1967) свидетельствуют, что тест с ТБСФ более чувствителен, чем нагрузка бенгальским розовым.

Для характеристики обезвреживающей функции печени предложен ряд проб с нагрузкой чужеродными веществами, детоксикация которых происходит в печени путем их разрушения, выделения с желчью или химического превращения в нетоксические соединения с последующим удалением из организма.

Из многочисленных таких тестов больше всего оправдала себя проба Квика — Пытеля, при которой вводимый в организм бензоат натрия обезвреживается в печени путем образования парного соединения — гиппуровой кислоты, выделяемой почками (И. П. Уланова, П. Г. Гаркави, 1961; Н. Степа-

Таблица 19

Изменение отдельных показателей функционального состояния печени при воздействии различных химических веществ в подостром (30 дней) и хроническом (5—6 месяцев) эксперименте ($P < 0{,}05$; + повышение, — понижение)

Вещества	Показатели						
	морфология	весовой коэффициент	Проба с ТБСФ	пробы Квика—Пытеля	SH-группы	аминокислоты в моче	гликоген
CCl_4 (подострая интоксикация)	Мелкокапельная жировая дистрофия	+	—		+	+	—
CCl_4 (хроническая интоксикация)	Жировая дистрофия отдельных клеток	+	—	—	Изменений нет	+	Изменений нет
Производные дифениламина (подострая интоксикация)		+	—	+	Изменений нет		

Продолжение

Вещества	Показатели						
	морфология	весовой коэффициент	Проба с ТБСФ	пробы Квика—Пытеля	SH-группы	амино-кислоты в моче	гликоген
Производные дифениламина (хроническая интоксикация)		Изменений нет	—	—	Изменений нет		Изменений нет
Хлористый метил (хроническая интоксикация)	Жировая дистрофия	+	—	—	—		
Фреоны (хроническая интоксикация)	Гиперплазия клеток ретикуло-эндотелиальной системы, мелкокапельная жировая дистрофия	Изменений нет	—	+			Изменений нет
Производные фурана (хроническая интоксикация)	Изменений нет	Изменений нет	+	Изменений нет	Изменений нет	Изменений нет	

нова, 1962; М. Я. Савина, 1963; И. П. Уланова, П. Г. Гаркави, Л. М. Самойлова, 1961; И. П. Уланова, Л. М. Самойлова, Г. Г. Авилова, 1963; И. П. Уланова, Л. М. Самойлова, Н. М. Карамзина, Г. Г. Авилова, 1963; П. Г. Гаркави и соавторы, 1966).

Уменьшение синтеза гиппуровой кислоты может быть связано с нарушением образования печеночными клетками в первую очередь гликокола и коэнзима А, а во вторую — самой гиппуровой кислоты из бензоилкоэнзима А и гликокола (Фишер, Weis; цит. по А. Фишер, 1961; De Vries, Alexander, 1948). Отсюда понятно, что одновременное введение бензоата натрия и гликокола ведет к искусственному снижению чувствительности гиппуровой пробы (В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, 1964; Е. А. Пидемский, А. А. Быкова, Г. В. Зенкова, 1967).

В токсикологии используются также пробы с введением наркотических веществ, подвергающихся разрушению в печени (гексенал, тиопентал). Обезвреживающая функция печени оценивается в данном случае по продолжительности наркотического сна подопытных животных. Хотя отдельные авторы считают подобные пробы достаточно чувствительными, последние ввиду их нефизиологичности, по нашему мнению, могут применяться на заключительном этапе исследования.

В настоящее время все большее значение для выявления патологии печени и наблюдения за течением процесса приобретает исследование энзимов крови. Наиболее специфичными для печени являются следующие ферменты: аланин — аминотрансфераза (ALT)[1], сорбитдегидрогеназа (SDH), фруктозо-1-монофосфат альдолаза (FMPA), глютамат-дегидрогеназа (GLDH), орнитинкарбамоилтрансфераза (ОСТ), гистидин-аммиак-лиаза (GAL), уроканиназа (UCN) (С. Р. Мардашев, В. А. Буробин, 1962, 1963).

В практике токсикологии, кроме ALT (Reitman, Frankel, 1957), широко исследуются аспартат-аминотрансфераза — AST (Reitman, Frankel, 1957), фруктозодифосфат-альдолаза — FDPA (В. А. Ананьев, В. Р. Обухова, 1958), холинэстераза — ChE (Fleisher, Pope, 1954) и щелочная фосфатаза — ALP (Bodansky, 1933).

Для индикации возможного действия химических веществ на печень в токсикологии используются, наконец, некоторые интегральные показатели состояния ткани этого органа. Так,

[1] Оценку активности ALT и AST см. в работе В. Е. Миклашевского, В. Н. Тугариновой, Г. А. Савоничевой, 1967.

по данным И. П. Улановой, Г. И. Поздняковой (1967), непосредственно после воздействия CCl_4 (рис. 47) весьма чувствительными показателями явились изменения весовых коэффициентсв и прижизненной окраски печени (в модифика-

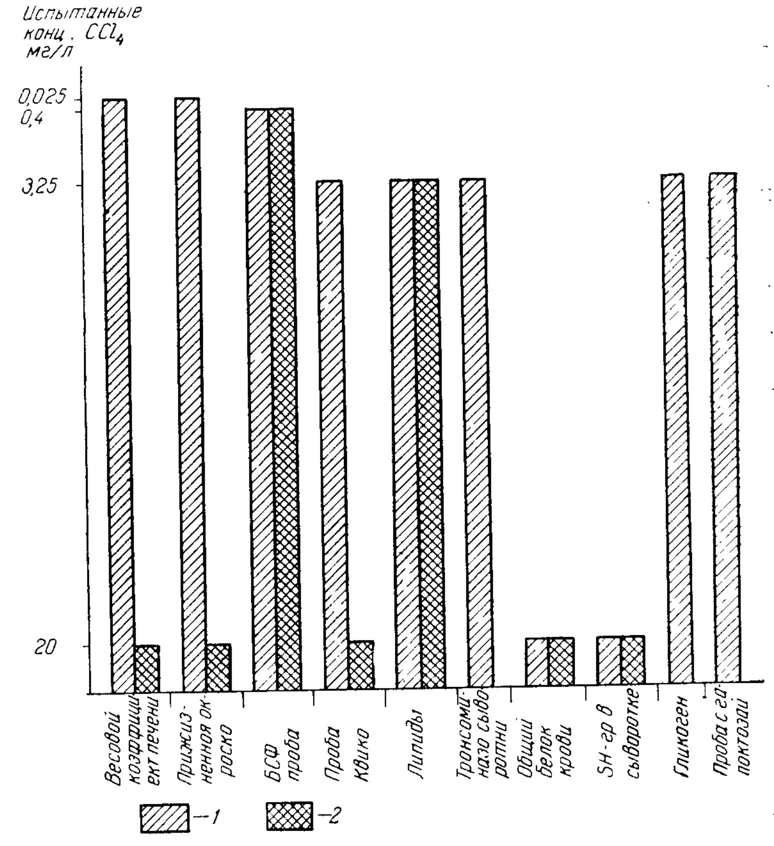


Рис. 47. Изменение функциональных проб печени при однократном воздействии четыреххлористого углерода. *1* — сразу после 4-часового воздействия; *2* — через 18 часов (на следующий день).

ции Я. И. Ажипы; цит. по М. Г. Дурмишьяну, 1959). Однако в условиях длительной интоксикации повышение весовых коэффициентов было найдено лишь при наличии органических поражений.

Таким образом, анализ приведенного выше материала показывает, что тесты, обеспечивающие выявление начальных

нарушений функции печени, как правило, основаны на принципе функциональных нагрузок (например, бромсульфаленном, галактозой, молочной кислотой, бензойнокислым натрием, аминокислотами). В данном случае мы имеем дело с частным проявлением общей закономерности — большей пригодности для выявления порогового действия токсических агентов динамических показателей по сравнению с константными (В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, Н. И. Лосев, В. А. Дружинина, 1963; С. Н. Черкинский, В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский, 1965; И. П. Уланова, Г. И. Позднякова, 1967). Однако следует всегда помнить, что при воздействии различных гепатотропных ядов могут быть выявлены особенности специфики поражения отдельных ее функций, поэтому при изучении патогенеза повреждения печени следует всегда стремиться к разностороннему исследованию.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЖИВОТНЫХ

Оценка функционального состояния почек у экспериментальных животных в промышленной токсикологии имеет большое практическое значение.

Хорошо известно, что при интоксикациях промышленными ядами изменения в почках протекают чаще всего в прямых и извитых канальцах (белковая и жировая дистрофия, набухание эпителия канальцев, а в тяжелых случаях — некроз отдельных канальцев), в меньшей степени изменения наблюдаются в клубочковом аппарате.

Количество выделенной мочи определяется в большинстве случаев не скоростью клубочковой фильтрации, а канальцевой реабсорбцией воды. В проксимальных канальцах обратной реабсорбции подвергается до 80% фильтруемой в клубочках плазмы. В дистальном секторе канальцев происходит заключительная стадия всасывания воды (избирательная реабсорбция воды).

В настоящем разделе кратко рассмотрены некоторые тесты, характеризующие функции почек.

Спонтанный диурез в обычных условиях у молодых крыс (весом 160—200 г) колеблется на низких цифрах — 1,5—2 мл за сутки. Такое количество мочи не позволяет провести подробный клинический анализ.

Хорошо известно, что введение в организм большого количества воды (до 5% от веса тела), мочевины, диуретина, ко-

феина, малых доз адреналина, физиологического раствора и др. сопровождается значительным диуретическим эффектом.

Мы испытали различные диуретические нагрузки. Было установлено, что в равных условиях постановки опыта наиболее чувствительными являются диуретические нагрузки с кофеином и физиологическим раствором.

Удельный вес. С регистрацией диуреза неразрывно связано определение удельного веса мочи, характеризующего концентрационную способность почек. При хорошей концентрационной способности почек нарушение выделения воды чаще всего указывает на наличие экстраренальных влияний. Важнейшим признаком почечной недостаточности служит нарушение концентрационной способности почек, которое выражается в явлениях гипостенурии или изостенурии.

В наших опытах определение удельного веса мочи осуществлялось весовым методом (вес 1 мл суточной мочи по отношению к весу 1 мл дистиллированной воды).

Удельный вес мочи у человека и животных при обычной диете чаще держится на уровне 1,016—1,024.

Определение белка в моче. Протеинурия — характерный признак почечной патологии, связанной с повреждением как клубочкового, так и канальцевого аппарата нефрона. Считают, что большое содержание белка в моче свойственно нефротическим состояниям с преимущественным поражением канальцев. В случае ренальной протеинурии белки происходят в основном из плазменных белков. В мочевом осадке при этом обнаруживаются почечные клетки и продукты их распада. Наиболее широко в токсикологических исследованиях для определения белка в моче используется колориметрический метод Lowry и сотрудников (1951).

Метод заключается в следующем. К 0,5 мл суточной мочи добавляют 14,5 мл воды. 0,5 мл разведенной мочи переносят в пробирку, куда добавляют 3,5 мл воды и 5 мл щелочного раствора меди; последний состоит из 50 мл 2% Na_2CO_3 в 0,1 N NaOH и 1 мл 0,5% $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в 1% виннокислом натрии или калии. Через 10 минут добавляют 0,5 мл реактива Фолина (приготовление см. в кн. Н. Н. Пушкиной «Биохимические методы исследования». М., 1963). Спустя 30—45 минут производят колориметрирование на ФЭК-М при красном светофильтре на левом барабане в кювете с длиной рабочей поверхности 20 мм. Полученную экстинкцию сопоставляют с калибровочной кривой и делают расчет с учетом разведения мочи.

Известно, что у нормальных здоровых крыс белок присутствует в моче приблизительно в количестве 3—6 мг в 1 мл, или

20—30 мг за сутки (у крыс весом 200 г). У более крупных крыс наблюдается большее количество белка в моче — до 40—50 мг за сутки.

Наши наблюдения позволяют сделать вывод о том, что концентрация белка в 1 мл суточной мочи лучше характеризует состояние почек, чем общее содержание белка во всем объеме мочи, выделенной животным за сутки. Содержание белка в суточной моче находится в прямой зависимости от диуреза, который может изменяться у животных и при различных экстраренальных влияниях.

Следует отметить, что нередко при интоксикациях промышленными ядами у белых крыс наблюдается снижение концентрации белка в моче по сравнению с контрольными животными. Такое снижение белка в 1 мл мочи не связано с почечной патологией, а зависит, по всей вероятности, от количества и состава белковых фракций плазмы крови: при уменьшении содержания общего белка или при сдвиге белковых компонентов крови в сторону увеличения количества грубодисперсных белков (чаще γ-глобулинов).

Из литературных данных известно, что с мочой могут выделяться все белковые фракции, в меньшей мере — альбумины, которые свободно реабсорбируются в канальцах. Для подробного исследования функции канальцев может быть предложен тест с введением сывороточного альбумина. Предварительно у подопытных крыс определяют содержание белка в моче, затем внутривенно вводят сывороточный альбумин из расчета 100, 250 и 500 мг на 100 г живого веса (в 2,5 мл физиологического раствора). После этого вновь определяют содержание белка в суточной моче (и в 1 мл мочи). Одновременно у тех же животных рекомендуется определить содержание альбумина в сыворотке крови электрофоретически.

Определение хлоридов в моче. В качестве одного из почечных тестов может быть использовано определение содержания хлоридов в моче. При снижении скорости клубочковой фильтрации и при увеличении интенсивности реабсорбции хлоридов в канальцах (хронический нефрит, нефроз) наблюдается гипохлорурия. Увеличение содержания хлоридов в моче характерно для некоторых повреждений почечных канальцев, сопровождающихся недостаточной реабсорбцией из клубочкового фильтрата, когда имеет место наряду с потерей воды усиленное выведение из организма электролитов.

Хлориды в моче крыс можно определять по методу Рушняка (О. В. Травина. Руководство по биохимическим исследованиям. М., 1955, стр. 178).

Для определения хлоридов в моче очень удобен быстрый метод Воточека (Б. И. Збарский, И. Б. Збарский, А. И. Солнцев «Практикум по биологической химии». М., 1962, стр. 222), видоизмененный в Научно-исследовательском институте шинной промышленности и основанный на прямом титровании хлоридов мочи азотнокислой ртутью. Получены хорошо совпадающие результаты при сопоставлении данного метода с методом Рушняка.

Ход анализа. 1—1,5 мл мочи прокипятить после добавления 1—2 капель 10% уксусной кислоты, остудить, профильтровать. К 0,2 мл профильтрованной мочи прибавить 2—3 капли азотной кислоты (разведенной 1 : 4) и 1—2 капли 1% спиртового раствора индикатора дифенилкарбазона. Титрование производят 0,01 N раствором азотнокислой ртути (окисной) до слабо розового или бледно-сиреневого окрашивания. Титр азотнокислой ртути устанавливается по 0,01 N раствору NaCl. Расчет: количество миллилитров азотнокислой ртути, пошедшее на тритование мочи, умножают на поправку к титру и на множитель 0,355; полученное число соответствует миллиграммам хлора в 0,2 мл мочи.

В опытах с подкожным введением эпихлоргидрина в дозах 65—125 мг/кг наблюдалось отчетливое (в $1^1/_2$—2 раза) уменьшение содержания хлоридов в 1 мл и во всем объеме суточной мочи.

При определении хлоридов в моче не рекомендуется использовать диуретическую нагрузку с физиологическим раствором.

Проба на выведение краски. В клинике для оценки секреторной функции извитых канальцев почек рекомендуют применять чувствительную пробу с нагрузкой красителями (индигокармин, феноловый красный). Задержка или отсутствие выделения красителя с мочой свидетельствует о патологическом состоянии почек и мочеточников.

В наших опытах использовался краситель феноловый красный в соответствии с методом, предложенным М. Тульчинским (1965), но модифицированным к небольшим количествам мочи у мелких лабораторных животных.

Проба с феноловым красным. Крысе вводят 10 мл воды в желудок и сейчас же 0,2 мл краски фенолрот внутримышечно. Для получения контрольной пробы мочи одной крысе вводят 10 мл воды в желудок, но не вводят краску. Затем крысу помещают в обменную клетку на 1—2 часа. Через час измеряют диурез и определяют количество выделившейся краски. Для этого 1 мл мочи (если моча интенсивно окрашена, то можно брать 0,5 или 0,25 мл) переносят в мерную пробирку на 10 мл, добавляют 0,2 мл 10% KOH или NaOH и объем доводят водой до 10 мл. Экстинкцию определяют на ФЭК-М на левом барабане в кювете с длиной рабочей поверхности на 20 мм при зеленом светофильтре. Фотометрируют против контрольной пробы мочи (неокрашенной), также разведенной в 10 раз. Концентрацию краски в моче находят по стандартной кривой.

Количество краски в миллиграммах, выведенной с порцией мочи, равняется содержанию фенолрота в 1 мл мочи, умноженному на количество миллилитров мочи.

Приготовление раствора краски: 60 мг фенолрота растворяют в 1 мл 2 н. NaOH и доводят до 1 мл 0,75% NaCl. Раствор стоек.

У белых крыс, которым вводили эпихлоргидрин под кожу в дозе 65 мг/кг, на 3—4-е сутки обнаружено четкое снижение выведения краски с мочой (0,78 мг за 2 часа у подопытных и 1,22 мг у контрольных), что свидетельствовало о нарушении секреторной функции почечных канальцев в этот период.

Определение креатинина, остаточного азота и мочевины в крови и моче. Исследование крови и мочи на присутствие в них азотистых веществ характеризует прежде всего состояние клубочковой фильтрации. При тяжелом поражении почек наблюдается резкое уменьшение в моче остаточного азота, креатинина и мочевины. При этом значительно увеличивается содержание тех же веществ в крови (азотемическая уремия).

В экспериментах на крысах мы использовали метод определения остаточного азота в сыворотке крови по Rappaport и Eichorn (1947).

Ход анализа. В центрифужную пробирку вносят 5 мл осадителя белка и 0,1 мл крови или сыворотки; через 5 минут центрифугируют, затем 4 мл центрифугата переносят в стаканчик, добавляют 5 мл гипобромитбората; спустя 1—2 минуты добавляют несколько кристалликов KI, 2—3 мл 18% HCl и несколько капель 0,5% раствора крахмала и титруют гипосульфитом 1/200 до исчезновения синего цвета. Ставится контрольная проба на реактивы. Расчет: $(A—B) \times 30 =$ мг% азота, где A — количество гипосульфита, пошедшее на титрование контрольной пробы (без крови); B — количество гипосульфита, пошедшее на титрование исследуемой пробы.

Реактивы: 1) осадитель белка. В мерную колбу на 1 л вносят 44,8 мл 10% раствора вольфрамата натрия, 2 г цитрата натрия, 6,4 г сернокислого натрия и растворяют в 800 мл

воды; затем добавляют 44,8 мл 1 н. H_2SO_4 и 2 г сернокислого кадмия и объем доводят до метки.

2) Раствор гипобромита: а) 84,5 г борной кислоты и 15,6 г NaOH растворяют в 500 мл воды и кипятят в течение 30 минут, после охлаждения доводят до 1 л; б) насыщенный раствор NaF; в) 27% раствор NaOH. Затем готовят смесь: 250 мл раствора (а), 150 мл раствора (б) и 50 мл раствора (в). Смесь хорошо сохраняется.

3) Раствор брома: а) 20 г KBr растворяют в 50 мл воды, добавляют 2,5 мл чистого брома и доводят водой до 1 л или б) 32 г KBr и 2,8 г $KBrO_3$ растворяют в мерной колбе на 1 л, добавляют 100 мл 1 н. H_2SO_4 и через 30 минут доводят до метки.

Раствор гипобромитбората готовят непосредственно перед употреблением: смесь (9 частей) гипобромита и бромного раствора (1 часть).

Определение креатинина в моче осуществляли по модифицированному методу Фолина (Biggs, Cooper).

Ход анализа. 1 мл суточной мочи наливают в мерную на 100 мл колбу, туда же добавляют 10 мл 1,5% раствора пикриновой кислоты и 1,5 мл 10% раствора NaOH. Ровно через 10 минут объем жидкости доводят водой до метки и колориметрируют на ФЭК при зеленом светофильтре. Количество креатинина определяют по калибровочной кривой.

Существующий метод определения креатинина в крови по Фолину — Ву (А. М. Петрунькина. Практическая биохимия. М., 1961) использовался нами в модификации Н. М. Карамзиной применительно к мелким лабораторным животным.

В центрифужную пробирку вносят 0,5 мл сыворотки, 2,5 мл воды и 0,25 мл 10% раствора вольфрамата натрия. Содержимое пробирки перемешивают, после чего в нее добавляют 0,25 мл $^2/_3$ н. H_2SO_4 и вновь перемешивают. Через 5—10 минут раствор центрифугируют. В пробирку берут 2,1 мл центрифугата (что соответствует 0,3 мл сыворотки), 0,5 мл 1,5% раствора пикриновой кислоты и 0,5 мл 10% раствора NaOH. Спустя 10 минут полученную смесь колориметрируют на ФЭК при синем светофильтре на правом барабане. Количество креатинина определяют по калибровочной кривой.

Лишь в некоторых опытах с введением больших доз эпихлоргидрина в желудок и под кожу (125 и 250 мг/кг) мы получили отчетливое увеличение креатинина в крови. При даче животным меньшей дозы эпихлоргидрина (65 мг/кг) данные в подопытной группе не отличались от контроля. Таким образом, указанный тест, по-видимому, непригоден для определения минимально действующих количеств яда.

Высокое содержание креатинина в крови является ценным диагностическим признаком уремического состояния, но не может служить показателем для ранней диагностики заболеваний почек, так как нарушение выделения креатинина почками наблюдается лишь при далеко зашедших патологических процессах в почках.

В начальном периоде почечной недостаточности в крови увеличивается количество мочевой кислоты, затем мочевины и в конце—креатинина. Азот мочевины составляет приблизительно 50% остаточного азота. В случае задержки азотистых веществ процентное содержание мочевины в остаточном азоте повышается, поэтому определение мочевины в крови является более чувствительным показателем, чем содержание остаточного азота и креатинина.

Уреазный метод определения мочевины в крови и моче по Conway (1935) простой в исполнении и довольно чувствительный. Метод основан на ферментативном разложении мочевины уреазой на углекислоту и аммиак.

Ход анализа. Во внешний цилиндр чашки Конвея вносят: 1 мл мочи (мочу предварительно разводят 1 : 200), 0,5 мл фосфатного буфера (pH 6,5—6,6) и 0,5 мл раствора уреазы (1 часть соевой муки в течение 18 часов экстрагируют 5 частями воды и центрифугируют; центрифугат сливают и к нему добавляют $^1/_{20}$ объема уксуснокислого буфера pH 5,0; через 1 час центрифугируют. Слегка опалесцирующая жидкость служит субстратом уреазы). Чашки Конвея закрывают крышкой и помещают в термостат при 37° на 1 час, в течение этого времени происходит ферментативное расщепление мочевины уреазой. После инкубации во внутренний цилиндр чашки Конвея наливают 2 мл 0,01 н. H_2SO_4; во внешний цилиндр вносят 1 мл насыщенного раствора углекислого калия (для вытеснения аммиака из раствора), чашку сейчас же герметически закрывают и при комнатной температуре оставляют на 6—24 часа. Вытесненный аммиак поглощается серной кислотой, налитой во внутренний цилиндр чашки Конвея. К кислоте добавляют каплю индикатора Ташира и не связавшуюся с аммиаком кислоту оттитровывают 0,01 н. NaOH. Обязательно ставят контрольную пробу с водой вместо мочи. Расчет производят по формуле:

$$\frac{(a-b)\cdot 0{,}14\cdot T}{n},$$

где a — количество щелочи, пошедшей на титрование контрольной пробы; b — количество щелочи, пошедшей на титро-

вание пробы с мочой; Т — титр щелочи, n — количество мочи, взятой для анализа (учитывается разведение); 0,14 — количество миллиграммов азота, эквивалентное 1 мл 0,01 н. щелочи. Результат выражается в миллиграммах азота мочевины в 1 мл мочи.

Для определения азота мочевины в крови или сыворотке берут 0,1—0,2 мл испытуемого субстрата. В остальном анализ проводится так же. Результат выражается в миллиграмм-процентах.

У контрольных животных содержание азота мочевины в сыворотке крови колеблется чаще всего в пределах 10—20 мг%, в моче — 6—20 мг/мл.

В опытах с подкожным введением эпихлоргидрина в дозе 65 мг/кг, как указано выше, не было обнаружено изменений в содержании креатинина в крови и моче, в то же время отмечено статистически достоверное уменьшение мочевины в моче и небольшое увеличение ее в сыворотке крови.

На основании данных о содержании мочевины в крови и моче предложены формулы расчета коэффициента очищения мочевины (И. И. Зарецкий, 1963), которые могут служить мерой функциональной активности почек. Мы остановили свой выбор на формуле стандартного коэффициента очищения мочевины (СКОМ):

$$\text{СКОМ} = \frac{\text{Мм} \cdot \sqrt{D}}{\text{Мк}}$$

где Мм — содержание мочевины в моче в миллиграмм-процентах;
Мк — содержание мочевины в крови в миллиграмм-процентах;
D — диурез в мл/мин.

Мы применили еще одну формулу (Э. К. Арнольди) для определения элиминационного мочевинного индекса (ЭМИ), причем для его вычисления по формуле

$$\text{ЭМИ} = \frac{M \cdot D}{m \cdot 100}$$

не надо определять мочевину биохимически; ЭМИ выражается в граммах на 1 кг в сутки.

М — процент содержания мочевины в суточной моче равняется 115. (В—1), где В — удельный вес мочи; 115 — коэффициент пересчета; D — вес суточной мочи в граммах, определяемый путем умножения диуреза на удельный вес (В); m — вес тела в килограммах.

При вычислении по этой формуле М необходимо вносить поправку на сахар (каждый 1% которого увеличивает удельный вес на 0,004) и на белок (3‰ которого увеличивает удельный вес мочи на 0,001). Кроме того, если моча очень мутная, то ее нужно центрифугировать.

Использование формул удобно, поскольку в формулах сопоставляется несколько показателей. Это помогает вынести заключение о нарушении функционального состояния почек. В данных случаях коэффициент очищения мочевины значительно ниже, чем в контроле.

Весовой коэффициент почек. Известно, что по окончании необходимого срока наблюдения у лабораторных животных проводится гистологическое исследование почек, при этом предварительно определяется относительный вес почек по отношению к 100 г веса тела животного. Эти сведения могут быть использованы для оценки состояния почек при интоксикации химическими веществами.

Перечисленные методы выбраны как наиболее простые и чувствительные среди других испытанных нами почечных тестов.

Однако следует иметь в виду, что нарушения функции почек у лабораторных животных не идентичны таковым у человека. В отличие от человека у белых крыс в норме с мочой выделяется белок. Ввиду малого количества суточной мочи у крыс не может быть использована проба с сухоядением при исследовании концентрационной способности почек и т. д. Показатели почечных тестов колеблются в зависимости от возраста, пола и содержания животных.

Для выявления почечной патологии (чаще всего нефрозов), возникающей при интоксикациях профессиональными ядами, мы рекомендуем следующую схему обследования животных.

1. Измерение суточного диуреза после применения водно-кофеиновой нагрузки (6 мл воды с 0,1 мл 10% раствора кофеина).
2. Определение удельного веса мочи.
3. Определение содержания белка, хлоридов и мочевины в моче.
4. Определение мочевины в крови.
5. Определение весового коэффициента почек.

Эта схема ни в коем случае не ограничивает инициативы исследователя и в каждом случае обоснованно может быть дополнена применением любых почечных тестов.

Литературные данные и собственные наблюдения показывают, что диагноз почечной недостаточности (нефроз) может

быть поставлен с высокой степенью достоверности, к сожалению, в случаях выраженной патологии. О последней свидетельствуют, как правило, полиурия, выделение мочи более низкого удельного веса, протеинурия, уменьшение хлоридов в моче, увеличение азотистых веществ в крови и весового коэффициента почек.

Токсикологов в большей степени интересуют ранние признаки нарушения функции почек при постановке экспериментов с целью определения пороговых доз и концентраций изучаемых токсических веществ.

Следует подчеркнуть, что изменение отдельных показателей не всегда укладывается в клинику почечной патологии и может свидетельствовать о наличии в организме изменений внепочечного происхождения (Д. Е. Альперн, 1965; Б. Б. Бондаренко, 1965).

Олигурия может встречаться при некоторых поражениях центральной нервной системы, в частности гипоталамуса и продолговатого мозга. Полиурия имеет место при обильном поступлении жидкости в организм, раздражении гипоталамуса, при повышении артериального давления, нарушении обмена веществ.

Нарушение нейро-эндокринной регуляции связано с изменением секреции антидиуретического гормона задней доли гипофиза. Недостаточное поступление его в кровь вызывает усиленное отделение мочи низкого удельного веса с уменьшением в ней хлористого натрия. Протеинурия функционального характера может быть вызвана воздействием химических, механических, психических и термических раздражителей. При внепочечной протеинурии в осадке мочи много лейкоцитов и бактерий, но почти не встречаются почечные клетки. Уровень содержания мочевины в крови варьирует в зависимости от изменения азотистого и водного обмена. Содержание мочвины в крови увеличивается при сердечно-сосудистой недостаточности, дегидратации организма и падает при снижении мочевинообразовательной функции печени.

Таким образом, обнаруженные изменения отдельных почечных тестов могут быть обусловлены экстраренальными причинами и в первую очередь изменением состояния гипофиз-адреналовой системы, регулирующей в значительной мере функцию почек.

В связи с этим следует указать на необходимость использования и сопоставления совокупности названных выше почечных тестов при динамическом наблюдении за животными, что позволит не только правильно оценить функциональное состояние почек, но также провести дифференциальный диагноз почечной и внепочечной патологии у экспериментальных животных.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГА РАЗДРАЖЕНИЯ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

С целью изучения характера действия и определения пороговых концентраций веществ, оказывающих раздражающий эффект на органы дыхания, предложены самые различные методы.

По характеру направленности их можно объединить в три основные группы.

1. Методы регистрации рефлекторных изменений дыхательного акта (задержка вдоха, частота дыхания, характер дыхания и др.).
2. Методы определения функционального состояния слизистых оболочек верхних дыхательных путей.
3. Методы регистрации интегральных показателей при раздражении органов дыхания.

Наиболее полные и точные данные с целью определения порогов раздражающего действия можно получить, комплексно используя определенный набор методов при работе с различными видами лабораторных животных.

Оцеика рефлекторных реакций

Г. И. Цобкалло (1940), Л. З. Пономарева-Астраханцева (1940) изучение различных фракций бензина «галоша» проводили на децеребрированных кошках по способу Шеррингтона (поперечная перерезка головного мозга на уровне передних бугров четверохолмия). Пары бензина вводили через трахеальную канюлю из спирометра. Для графической регистрации дыхания служила капсула Марея, соединенная с боковым отростком трахеальной канюли. Длительность вдыхания паров 5 минут.

В. В. Исаченко (1940), И. Д. Гадаскина (1937, 1941, 1946), Л. М. Цой (1961) и др. проводили исследования паров ряда наркотиков и других раздражающих веществ по методу Meyer (1931) в модификации В. В. Исаченко: в трахею кролика вставляли две трубки, одна из которых позволяла изолировать верхние дыхательные пути. Таким образом изучали лишь раздражающее влияние на верхние дыхательные

пути, исключая попадание вещества в легкие. Частоту и характер дыхания записывали или с верхней канюли, или с пневмоманжеты.

Ван Вэнь-янь, А. А. Голубев (1957) и другие авторы для оценки рефлекторных реакций с верхних дыхательных путей кролика на воздействие ряда химических веществ использовали систему, состоящую из датчика (капсула Марея), воспринимающего дыхательные движения, воздушно-передаточного и регистрирующего устройства. Пневмограммы записывали чернильным пером на обычной или писчиком на закопченной бумажной ленте кимографа. Указанный метод ввиду отсутствия стабильного сопротивления в передаточной системе оказался недостаточно объективным и недостаточно чувствительным.

М. П. Слюсарь, Н. М. Василенко, В. В. Лабунский (1962—1965) в работах по гигиеническому нормированию производных α-нафтохинона использовали, а в последующем (1965, 1967) предложили для широкой практики способ регистрации пневмограммы, состоящий в объективном динамическом учете этого показателя. Подопытное животное фиксируют на надутой воздухом резиновой манжете (с целью стабилизации условий передачи дыхательных движений давление в манжете постоянно поддерживается на уровне 60 мм вод. ст.), соединенной резиновой трубкой с плетизмографом, который через гнездо для подключения приставки присоединен к двухканальному электрокардиографу с чернильной записью для передачи на него импульсов, соответственных дыхательным движениям кролика. Скорость движения лентопротяжного механизма уменьшалась с помощью специальной шестеренки до 6 мм/сек.

Указанный метод предложен для записи пневмограмм у кроликов и более мелких животных при исследовании действия паров и пыли.

При этом за пороговые принимались концентрации, вызывающие минимальные изменения частоты и характера дыхательных движений кролика.

Для мелких лабораторных животных (морские свинки и крысы) также предложен ряд способов регистрации пневмограмм (В. М. Карасик, 1934; А. И. Нестеров, 1957; Sallé и Brumand, 1960, и др.).

Перечисленные методы регистрации дыхания могут применяться в период затравки животного, что позволяет своевременно учитывать реакцию на воздействие раздражающего вещества.

Примером может служить метод, разработанный в лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР В. П. Егоровым (1960).

Установка (рис. 48) состоит из эксикатора, в который свободно помещается животное; пневматического усилителя, состоящего из нескольких мембран с равномерным поддувом воздуха (показано стрелкой), что позволяет усиливать колебания давления в эксикаторе, вызываемые дыхательными движениями животного. Для записи дыхания в установку вклю-

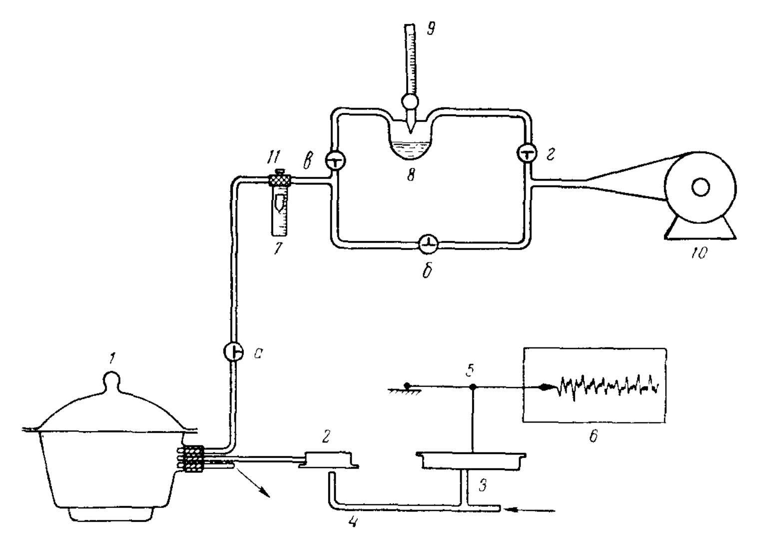


Рис. 48. Установка для регистрации дыхания у животного.

1 — эксикатор, в который помещают животное; 2, 3 — усиливающие капсулы; 4 — поддув для усиления колебания мембран; 5 — писчик; 6 — лента; 7 — ротометр; 8 — смеситель; 9 — бюретка с веществом; 10 — воздуходувка; 11 — винт для регуляции скорости поступающего воздуха: а — кран для отключения всей падающей системы; б, в и г — краны для подачи вещества.

чен лентопротяжный механизм, равномерно продвигающий ленту с заданной скоростью (обычно 30 см в минуту), и чернильное перо. Прибор дает возможность записывать частоту и характер дыхания животных без их фиксации, что позволяет избежать дополнительных искажений. Для регистрации изменений дыхания, зависящих от воздействия химических веществ, к эксикатору присоединена установка. Последняя состоит из воздуходувки, обеспечивающей постоянную вентиляцию, благодаря чему возможно длительное пребывание

животного в эксикаторе, нескольких смесителей (для удобства изображения на схеме показан один), позволяющих последовательно создавать различные концентрации испытуемых веществ, и трубок с трехходовыми кранами, с помощью которых изменяется ход струи подаваемого воздуха.

Если летучесть химических продуктов, которыми осуществляется воздействие, существенно зависит от температуры окружающего воздуха, смеситель помещают в водяную баню. Концентрацию вещества контролируют путем проб воздуха на месте его выхода из эксикатора.

Опыт проводится в такой последовательности. Животное на 3—5 минут помещают в эксикатор для того, чтобы угасла ориентировочная реакция. При спокойном поведении животного (например, крысы) пневмограмма имеет форму равномерной кривой, на фоне которой нетрудно обнаружить сдвиги, связанные с дополнительным воздействием. В процессе исследования к струе чистого воздуха добавляют химическое вещество в последовательно увеличивающейся концентрации. Между воздействием подается чистый воздух, длительность воздействия должна быть непродолжительной (не более 30—60 секунд).

При достижении определенного уровня изучаемого продукта в воздухе эксикатора у животных появляются характерные реакции: начинают нюхать воздух, беспокоиться и настораживаться, что вызывает нарушение ритма и формы дыхательных движений, отчетливо заметное на пневмограмме.

Концентрация вещества, закономерно вызывающая у большинства животных ориентировочную реакцию и следующие за ней изменения частоты или формы дыхательных движений, считается порогом раздражения верхних дыхательных путей. Ориентировочная реакция без изменения характера дыхания, частоты мигания, величины слюно- и слезоотделения, по-видимому, может трактоваться как порог обонятельного ощущения (И. М. Алпатов).

В токсикологическом эксперименте для записи частоты дыхания может применяться также метод бесконтактной пневмографии крыс, предложенный Ю. Н. Успенским (1966). Запись проводится у животного в свободном состоянии, находящемся в герметически закрытом 10-литровом эксикаторе, после ориентировочной реакции. Последний соединен трубкой через пульмокардиографическую приставку ПК-1 с двухканальным электрокардиографом.

Особого внимания заслуживает метод изучения респираторных раздражителей, основанный на измерении механической реакции легких до, во время и после затравки, который разработан Amdur на кафедре физиологии Гарвардского университета и нашел широкое применение в практике зарубежных токсикологов.

Увеличение сопротивления легких в процессе дыхания, вызываемого раздражающими веществами, показывает зависимость этого сопротивления от концентрации продукта. Функциональное состояние легких оценивается тремя измерениями: внутриплевральным давлением, объемом дыхания и скоростью движения воздушного потока при вдохе и выдохе.

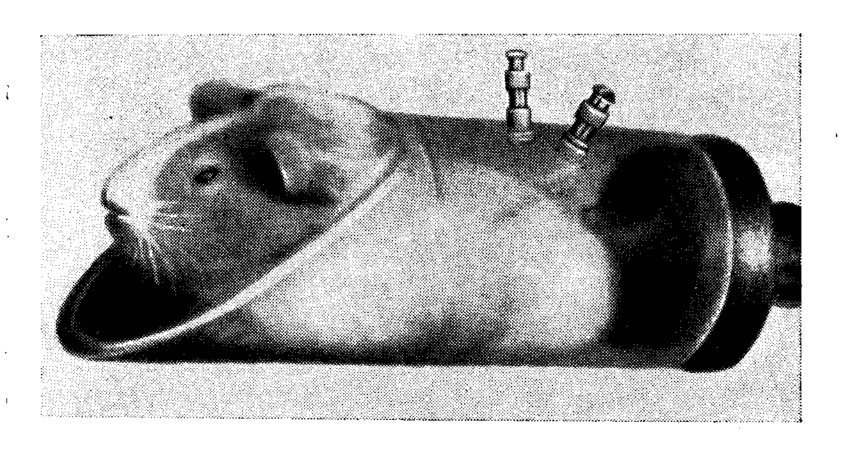


Рис. 49. Морская свинка в плетизмографе. Большая трубка соединена с 5-литровой бутылью, малая — с преобразователем давления. Концы внутриплеврального катетера через трехходовые краны соединены с электрическим манометром и системой, обеспечивающей ток жидкости.

Методика проведения эксперимента следующая. За несколько дней до затравки морской свинке под легкой анестезией при помощи эластичной проволоки вставляют в грудную полость резиновый или полиэтиленовый катетер (длина трубки 20—25 см, диаметр 0,8 мм) с тремя насечками посередине (для сообщения с внутриплевральным пространством). Входное отверстие располагается на уровне шестого межреберного промежутка на задней срединной линии слева, выходное — симметрично справа. Концы катетера соединяют трехходовыми кранами для замыкания системы с датчиком давления и регулярного промывания трубки физиологическим раствором с гепарином с целью предупреждения тромбообразования.

Подготовленное таким образом животное в день опыта помещают в специальный герметический домик-плетизмограф (рис. 49), который можно поместить в любую затравочную камеру для проведения необходимого эксперимента.

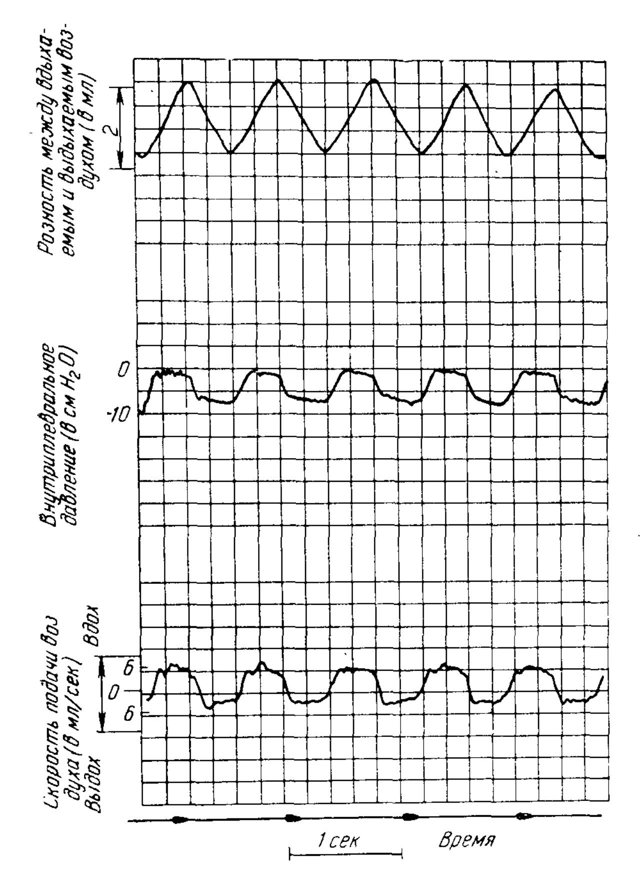


Рис. 50. Образец графика дыхания морской свинки (по М. О. Амдур).

Объем воздуха при вдохе и выдохе регистрируется по изменению давления в плетизмографе, соединенном с резервной бутылью, которое передается на преобразователь (датчик) давления и электрически усиливается. Концы катетера для измерения внутриплеврального давления соединяют с электроманометром, усилителем и самописцем.

Скорость поступления воздуха в распираторную систему и выхода из нее, являясь функцией изменения объема в зависимости от времени, измеряется электрической дифференциацией объемного сигнала.

Регистрация всех показателей проводится одновременно на одном осциллографе. Сопротивление легких поступающему воздуху и путь прохождения воздуха (в сантиметрах H_2O/мл/сек) рассчитывается из отношения изменения внутриплеврального давления к изменению скорости прохождения воздуха в точках осциллограммы, соответствующих равным объемам легких (рис. 50). Эластичность легких измеряется податливостью (в миллилитрах на 1 см H_2O), рассчитываемой из отношения разности объема при вдохе и выдохе к изменению внутриплеврального давления в нулевой точке воздушного потока.

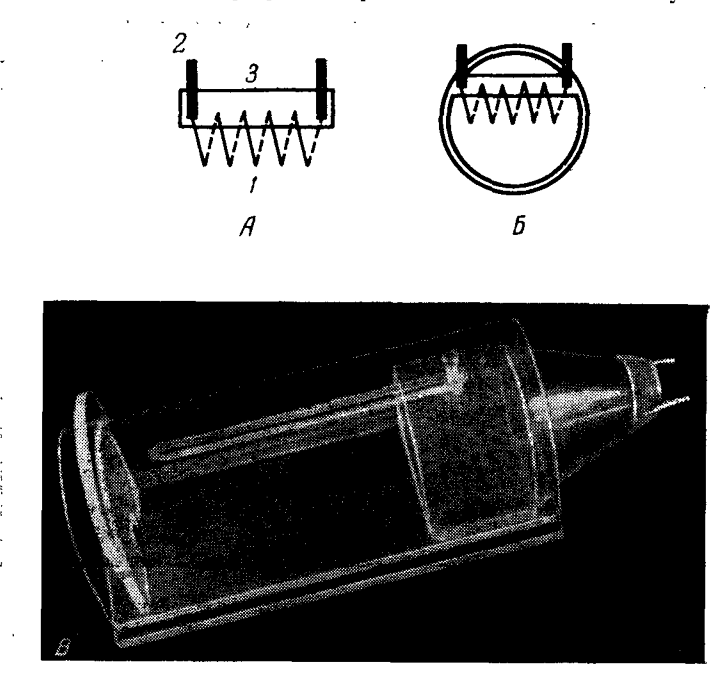


Рис. 51. Общий вид домика с дыхательным датчиком.

А — термобатарея; 1 — термопары; 2 — металлическая пластина; 3 — крепление спаев пластинами из органического стекла; Б — расположение дыхательного датчика на головной части домика; В — внешний вид домика.

Опыт проводится в следующей последовательности: в течение 30 минут через камеру пропускают чистый воздух, далее следует период затравки и наблюдения длительностью по одному часу. Измерения регистрируются каждые 5 минут.

Наиболее перспективным и удобным в обращении является способ регистрации частоты дыхания с помощью термобатареи, состоящей из нескольких термопар (5 или 10 в зависимости от чувствительности записывающего устройства), которые укрепляются в головной части фиксирующего домика в области дыхания животного (рис. 51).

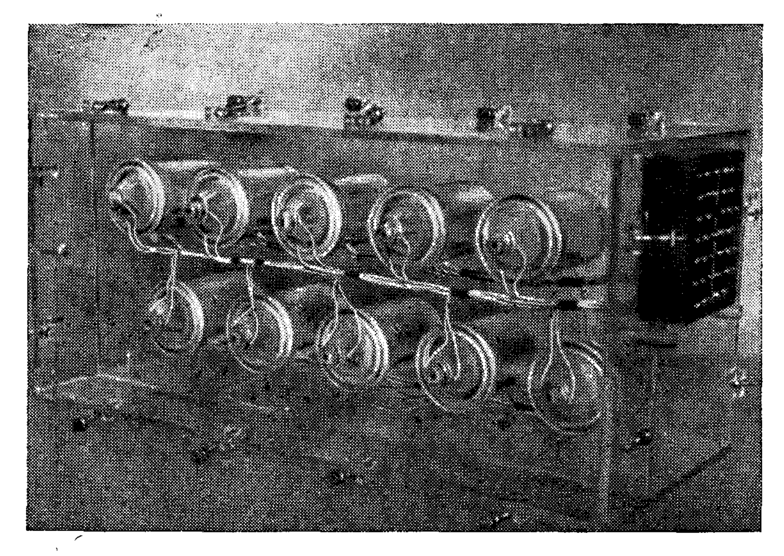


Рис. 52. Общий вид камеры с одновременной регистрацией дыхания и электрокардиограммы у мелких животных во время их затравки (передняя стенка снята).

Принцип данного метода состоит в регистрации электродвижущей силы, возникающей в батарее при изменении температуры вдыхаемого и выдыхаемого воздуха. Однако этот способ не дает возможности подсчитать соотношения времени вдоха и выдоха. Впервые указанный метод на отдельных мелких животных применен в токсикологической практике Р. М. Любимовой-Герасимовой (1968). В лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР Г. Г. Максимовым разработана система для одновременной записи дыхания и электрокардиограммы у группы животных (рис. 52). Метод позволяет регистрировать рефлекторные реакции органов дыхания и сердца животного при воздействии раздражающего агента.

Оценка функционального состояния слизистой оболочки верхних дыхательных путей

Наряду с рефлекторными реакциями дыхательного аппарата раздражающие вещества обычно вызывают и местное изменение слизистых оболочек дыхательного тракта, которое иногда следует расценивать как проявление раздражающего действия.

Одним из признаков, характеризующих нарушения функционального состояния слизистой оболочки, является изменение некоторых физических свойств слизи, продуцируемой железистым эпителием. С этой целью Denton, Litt и Hwang (1966) сконструировали специальный аппарат — магнитный микрореометр, основанный на использовании свойств твердых частиц (никеля) двигаться в слое жидкости под действием магнитного поля. Движение частиц регистрируется оптическим устройством с преобразованием в электрические сигналы. Исследования проводятся на небольших количествах слизи, взятых из различных участков дыхательного тракта.

Изменения движения слизи являются следствием нарушения деятельности мерцательного аппарата. Так, Nausch и Pygrt (1959) в опытах на препаратах слизистой оболочки трахеи кролика, а В. В. Каменкова и Б. К. Жаманов (1965) на слизистой оболочке трахеи белых крыс о повреждающем действии раздражающих веществ судили по длительности переживания мерцательного эпителия (по движению ресничек) в растворе Тироде. Описаны также методы прямого определения подвижности ресничек трахеи на кролике с помощью киносъемки.

Результатом раздражающего действия также является увеличение количества лейкоцитов на слизистой оболочке носа, которое подсчитывается в 1 мм^3 центрифугата смыва из полости носа. Описанный метод находит также широкое применение при обследовании рабочих химических предприятий (Т. В. Рассказова, 1960).

Местная воспалительная реакция тканей, как известно, приводит к усилению проницаемости мелких сосудов. Указанный факт явился основой пробы с флюоресцеином, предложенной Б. М. Сагалович. Методика пробы разработана в

лаборатории промышленной токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР Н. К. Кулагиной и В. П. Рябиной.

За 1—1½ часа до начала опыта с целью увеличения диуреза крысам вводят в желудок 5 мл воды комнатной температуры. По истечении указанного срока в каждую ноздрю животного вносят по 1—2 капле 5% раствора флюоресцеина. Животное помещают в обменный домик для собирания мочи. Через равные промежутки времени (обычно через 5 минут) каплю мочи наносят на фильтровальную бумагу и рассматривают в ультрафиолетовом свете (поток лучей портативной ртутно-кварцевой трубки предварительно пропускают через кварцевое стекло). Время появления свечения капли мочи отмечается. Подобную процедуру повторяют после 4-часовой ингаляционной затравки животных. Для сокращения времени эксперимент можно проводить на двух группах животных (подопытной и контрольной). Полученные при этом результаты подвергаются статистической обработке.

Более обоснованным является контроль за появлением люминесценции в плазме крови, что значительно сокращает время исследования и не требует предварительной подготовки животного. Однако необходимость частого отбора крови у животных является значительным препятствием для внедрения этой модификации.

Апробирована методика прижизненной окраски ткани легких (Г. Г. Максимов, 1969).

Интегральные показатели

Из интегральных показателей раздражающего действия веществ широко используется метод регистрации изменения сгибательного рефлекса кролика, предложенный Е. И. Люблиной (1948), показатель суммационной способности центральной нервной системы (С. В. Сперанский, 1965), метод определения потребления кислорода и др.

Обращает на себя внимание простой и чувствительный метод регистрации спонтанной подвижности мышей, использованный в исследованиях Н. Г. Иванова (1964). Активность животного автоматически регистрируется счетным устройством.

В поисках наиболее чувствительных методов регистрации раздражающего действия химических агентов ряд авторов большое внимание уделяют электроэнцефалографическим исследованиям (К. А. Буштуева и др., 1960).

Однако дорогостоящая и сложная в обращении электронная аппаратура оправдывается только в случае необходимости определения порога рефлекторного (не раздражающего) действия летучих веществ. В случае определения порога раздражения она не имеет особых преимуществ перед описанными выше методами.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ И КРОВЕТВОРЕНИЯ

Специфическое воздействие промышленных химических веществ на систему крови и кроветворения связано в основном с поражением костного мозга (бензол, этиленимин и др.), превращениями гемоглобина (окись углерода, анилин, нитро- и аминосоединения ароматических и алифатических углеводородов и др.), гемолизом эритроцитов (фенилгидразин, мышьяковистый водород, свинец и др.).

Неспецифическое действие ядов может быть связано с регуляторными процессами, а также с приспособительными реакциями, протекающими с выделением адаптивных гормонов, по типу синдрома Селье.

Неспецифические проявления изменений периферической крови при действии многих химических веществ (по данным лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР) заключаются в основном в изменениях общего количества лейкоцитов (нерезко выраженный лейкоцитоз) и лейкоцитарной формулы (лимфопения, нейтрофилез, иногда со сдвигом влево, эозинопения или эозинофилия). Изменения красной крови наблюдаются значительно реже и характеризуются лишь небольшим снижением количества гемоглобина и эритроцитов.

Выбор методов. В случае неспецифических нарушений морфологического состава крови рекомендуется набор методов, включающий определение содержания гемоглобина, подсчет количества эритроцитов, лейкоцитов и лейкоцитарной формулы крови.

При воздействии профессиональных ядов, вызывающих поражение костномозгового кроветворения, детальное исследование морфологического состава крови следует проводить в сочетании с изучением миелограмм.

При отравлении ядами, нарушающими пигментную функцию крови, проводят подробное исследование превращений пигмента крови (карбоксигемоглобин, метгемоглобин, сульф-

гемоглобин и др.), методы исследований которого приведены в специальной литературе.

В случае гемолитического действия ядов большое значение имеет исследование процессов гемолиза — осмотической стойкости, кислотной «резистентности» эритроцитов и др.

Методика взятия крови. Известно, что при взятии крови из разных участков тела (хвост и тушка) количество форменных элементов крови колеблется почти вдвое, поэтому чрезвычайно важно брать кровь в течение всего эксперимента из одного и того же сосуда или группы сосудов, в одно и то же время, как правило, натощак. Отбор крови рекомендуется производить у крыс из боковых вен хвоста, у морских свинок, кроликов и кошек — из краевой вены уха. Повторное взятие крови у лабораторных животных для общего анализа крови следует производить не чаще чем через 2 недели, особенно в случае неспецифического воздействия химических веществ.

Методы исследования количества гемоглобина и форменных элементов крови. В настоящее время количественное определение гемоглобина проводится с помощью объективного и точного метода фотоколориметрии. С этой целью используются приборы ФЭК-Н, ФЭК-Н-54, эритрогемометры (Г. В. Дервиз, А. И. Воробьев, 1959; В. И. Запускалов, Б. Н. Шмидт, 1955; И. И. Красовский, 1953) и др. Для этого 30 мм^3 крови разводят в соотношении 1 : 200 0,04% раствором аммиака (4 мл) и колориметрируют при зеленом светофильтре (λ = 500 mμ, кювета шириной 10 мм).

Не изжило себя в лабораторной практике и колориметрирование крови с помощью гемоглобинометра Сали (В. Н. Никитин, 1956, и др.), не лишенное известной субъективности.

Определение количества лейкоцитов и эритроцитов в настоящее время проводится как визуальным способом под микроскопом, так и с помощью различной полуавтоматической аппаратуры (целлоскопы модели 101 и 202 фирмы Льюинберг, фотоэлектроэритрогемометры и др.) (В. Е. Предтеченский, 1960; Н. П. Алексеева, В. А. Дружинина, В. Н. Тугаринова, 1959; Е. М. Бессонова, 1959, и др.). На указанных приборах возможно производить подсчет не только количества различных клеток, но и их величины, предварительно разрушив клетки, мешающие определению.

При визуальном подсчете после точного отбора пробы крови в стандартные смесители или в случае массового эксперимента в пробирки (Л. Гольдберг, 1947) производится разведение ее обычно в соотношении 1:100 раствором Гайема или физиологическим раствором (эритроциты) и 1:10 3% раствором уксусной кислоты (лейкоциты) с последующим подсчетом числа клеток в камере Горяева. Поскольку возможна индивидуальная ошибка подсчета, желательно, чтобы подсчет производило одно лицо в течение всего опыта.

В ряде случаев (снижение количества эритроцитов, гемоглобина) рекомендуется производить вычисление цветного показателя крови испытуемых животных по формуле:

$$\text{цветной показатель} = \frac{\text{Hb иссл. эр.}}{\text{HbN эр. иссл.}}$$

Цветной показатель в норме у всех лабораторных животных равняется 1 (В. Н. Никитин, 1956; Е. Д. Буглов, 1959).

Техника приготовления мазков крови и их фиксация подробно освещены в ряде методических руководств (В. Е. Предтеченский, 1960; А. П. Егоров, 1951; В. Н. Никитин, 1956; П. С. Бизяева, 1948; Е. Л. Яхонтов, 1959, и др.). Следует напомнить, что подсчет элементов лейкоцитарной формулы крови необходимо производить ступенчато по краю мазка (до 3—5 полей зрения вглубь) не менее 200 клеток, так как распределение клеток в разных участках мазка на стекле неравномерно.

Изменения формулы крови, прослеженные в динамике, предлагается выражать в виде лейкоцитарного профиля, который отражает количественные нарушения в содержании различных видов лейкоцитов в абсолютных величинах и дает возможность определять степень их изменений (И. А. Кассирский, Г. А. Алексеев, 1962; Е. И. Ребиков, 1953). Необходимо также обращать внимание на качественные изменения как белой (токсическая зернистость, вакуолизация, фрагментоз, гиперсегментоз и др.), так и красной (неравномерность окраски, формы, размеров и др.) крови, а также оценить приблизительное содержание тромбоцитов в мазке. Последнее может в определенной мере нацелить экспериментатора на дополнительный круг исследований.

Различная величина эритроцитов в мазке крови ведет к необходимости измерения диаметра эритроцитов с последующим построением эритроцитометрических кривых Прайса — Джонса. Определение диаметра эритроцитов производится с помощью окулярной микрометрической линейки или микрометрической сетки с двумя вертикальными и двумя горизонтальными полями (Т. И. Кассирский, 1955), что ускоряет технику подсчета.

Наряду с этим при различных формах анемий большое значение имеет определение объема эритроцитов с помощью гематокрита (В. С. Сидоренко, 1957; Э. И. Атаханов, 1952; В. Н. Никитин, 1956) и микрогематокрита.

Кроме определения диаметра эритроцитов, при ряде интоксикаций необходимым является подсчет молодых форм клеток красной крови с витальной зернистостью — ретикулоцитов. Следует указать на чрезвычайное множество различных методов выявления ретикулоцитов (А. П. Егоров, Л. Берман и Т. Кольцова, 1940; Н. П. Соколов, 1955; А. С. Хрусталев, 1956; Р. А. Алимов, 1960, 1963). Наиболее принятым и экономным является метод суправитальной окраски ретикулоцитов 1% раствором бриллиант-крезиловым синим (А. П. Егоров, 1951).

Наиболее принятым методом окраски базофильно-зернистых эритроцитов является окраска метиленовым синим (В. Е. Предтеченский, 1960).

Подсчет количества ретикулоцитов и базофильно-зернистых эритроцитов производят в различных участках мазка на 1000 эритроцитов. Выявление и подсчет телец Гейнца производят либо в мазках (Я. Я. Соколовская, 1948), либо в толстой капле крови. Количественная оценка содержания телец Гейнца возможна лишь в мазке крови.

Определение количества тромбоцитов (А. М. Ерошкина, 1958; К. П. Зак, Н. И. Науменко, 1962; С. М. Ерусалимская, 1963) производится в счетной камере, с помощью контрастной микроскопии и в мазках крови по Фонио, а также с помощью целлоскопа (Ф. С. Адонкин, 1963; Р. П. Золотницкая, 1965). В токсикологической лаборатории Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР применяется наиболее простой метод отбора крови в парафинированные стаканчики с 3,8% раствором лимоннокислого натрия на бидистиллированной воде. Подробно данный метод описан А. П. Егоровым (1951) (табл. 20).

Взятие костного мозга и методы его исследования. Существуют как прижизненные, так и посмертные способы взятия костного мозга у лабораторных животных.

Методика прижизненного взятия костномозгового пунктата у крыс и кроликов подробно изложена И. В. Ильинской (1958), В. Н. Никитиным (1956) и заключается в пункции бедренной кости (под наркозом) и извлечением 0,05 мл пунктата тонкой иглой Дюфо или видоизмененной иглой Бира и делается тонкий (тоньше мазка крови) мазок костного мозга. Фиксацию и предварительную окраску мазков костного мозга

Таблица 20

Морфологический состав периферической крови лабораторных животных в норме в 1 мм³ крови (по данным ряда советских исследователей)

Вид животного	Hb в %	Лейкоциты в тыс.	Эритроциты в млн.	Тромбоциты в тыс.	Лейкоцитарная формула (%): лимфоциты	моноциты	эозинофилы	нейтрофилы: сегментоядерные	нейтрофилы: палочкоядерные	нейтрофилы: юные	базофилы
Белая мышь	100	9,5	9,0	255	68,0	4,0	2,0	23,1	2,0	0,0	0,5
Белая крыса	110	15,0	6,0	400	64,0	3,0	3,0	26,5	2,0	0,0	0,5
Морская свинка	100	10,3	5,0	626—917	45,0	6,0	7,0	37,3	3,0	0,0	1,0
Кролик	70	7,6	5,0	302	59,0	2,0	1,0	30,0	5,0	0,0	2,5
Кошка	90	18,0	7,0	430	25,8	1,2	4,5	63,5	4,5	0,25	0,25

производят 0,5% раствором Май-Грюнвальда на метиловом спирте в течение 30 секунд, затем доливают водопроводной воды до полного смешивания краски. Окраска производится в течение 2—3 минут и затем раствор тщательно смывают. После этого мазки окрашивают краской Романовского на водопроводной воде при температуре 37—40° (2 капли краски на 1 мл воды). Окраска длится 6—22 минуты, в норме — 15—18 минут (М. Р. Балахнина, 1954). Подсчет форменных элементов костного мозга (500—2000 клеток) производится на площади всего мазка с последующим пересчетом на 100 клеток.

Для оценки функциональной способности костного мозга наряду с миелограммой производят подсчет абсолютного количества ядросодержащих клеток в единице объема или веса костномозговой ткани (Т. И. Алексеев, О. В. Глебович, 1952). С этой целью извлекают весь костный мозг той или иной кости (у забитых животных) на часовое стекло, измельчают его и берут определенную навеску. Затем готовят взвесь клеток в 5% уксусной кислоте и производят подсчет в камере Горяева. Пересчет ведется на 1 мг ткани (Н. В. Диковинова, 1957). При этом разбавление костного мозга, по данным Gerarde (1956), производят у мыши до 50 мл (20 мг костного мозга), у крысы до 300 мл (75 мг костного мозга).

В настоящее время, помимо миелограмм, при исследовании костномозгового кроветворения проводят детальное цитологическое изучение функционального состояния костного мозга:

подсчет дегенеративных форм, митотической активности и др. (Е. В. Арзамасцев, 1965; С. Ягнов, 1959; Н. М. Шмакова, 1965, и др.). Наряду с указанным при изучении качественных изменений клеток костного мозга используется люминесцентная микроскопия (С. П. Ярмоненко, 1959; М. Я. Ходас, 1960; Л. В. Брейвис, 1959; Е. Б. Закржевский и Л. Г. Васильева, 1963) и многие другие методы, применяемые в лабораториях клинической гематологии.

Физико-химические исследования крови. Наряду с изучением форменных элементов крови в токсикологической практике используют ряд методов, определяющих физико-химическое состояние крови — осмотическая резистентность эритроцитов, кислотные эритрограммы, система свертывания и др.

Получивший широкое признание метод изучения стойкости эритроцитов к кислотным воздействиям (И. И. Терсков и И. И. Гительзон, 1957) заключается в фотометрическом измерении (удобен ФЭК-14-56) уменьшения количества эритроцитов, вызванного путем добавления 0,004 н. раствора HCl на физиологическом растворе. При этом измерение количества эритроцитов производят через равные промежутки времени (30 секунд).

По данным И. И. Терскова и И. И. Гительзона, общая продолжительность гемолиза при применении 0,004 н. раствора HCl у различных видов теплокровных животных колеблется в пределах 6—10 минут. Величина пика гемолиза находится в пределах 20—35%, варьирует также и положение пика гемолиза во времени.

Полученные данные после обработки возможно представлять в виде сводной или суммарной эритрограммы для подопытной и контрольной групп животных. Последняя получается сложением и определением средней арифметической из величины гемолиза в процентах на определенных этапах времени.

Большое значение в токсикологическом эксперименте имеет возможность выявления осмотической резистентности эритроцитов, определение которой производится согласно методам, изложенным В. Н. Никитиным (1956) и В. Е. Предтеченским (1960).

Поскольку воздействие многих ядов сопровождается заметным изменением содержания тромбоцитов крови и ее свертываемости, рекомендуется набор методов, позволяющий в определенной степени судить о системе свертывания крови. Подробно комплекс указанных методов изложен в руководствах В. Е. Предтеченского и В. Н. Никитина. Кроме того, рекомендуется производить определение ретракции сгустка

крови (А. М. Котовщикова, З. Д. Блексмит, 1957; Hirschboeck, 1948) по времени появления первой капли сыворотки. Для этого каплю крови помещают в укороченную пробирку, заполненную 5—8 см³ касторового масла, причем время начала ретракции отмечается с момента появления капли крови после надреза или прокола сосуда. Рекомендуется ставить две параллельные пробы. В норме время ретракции сгустка у кроликов колеблется от 15 до 33 минут, у крыс — от 20 до 40 минут.

Определение РОЭ у лабораторных животных производится аналогично определению у людей. Нормальная скорость оседания эритроцитов составляет для кроликов 2 мм в час, для кошек — 3 мм в час, для морских свинок — 1,5 мм в час.

В заключение следует отметить, что, несмотря на довольно большой набор гематологических методов исследования, в каждом случае следует ограничить их выбор с учетом специфики действия изучаемого профессионального яда.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Внешний газообмен. В промышленной токсикологии начало применения методов изучения функции дыхания связано с работами Н. С. Правдина. Значительная лабильность реакций газообмена, а также возможность количественного учета возникших изменений послужила основанием для использования этого интегрального показателя с целью установления порога острого действия (Н. С. Правдин, 1939, 1947), для выявления минимальных изменений при хронических интоксикациях в эксперименте на лабораторных животных (М. Л. Рылова, 1958, 1964), а также раскрытия патогенетических механизмов токсического действия профессиональных ядов.

Для исследования функций внешнего дыхания в эксперименте на лабораторных животных нашли применение различные приборы, которые по принципу их действия разделяются на открытые и замкнутые системы. В первых воздух попадает в зону дыхания животных посредством специальной маски (если животное крупное), выдыхаемый воздух собирают для анализа в стеклянные или резиновые емкости. Если изучению подвергаются мелкие животные, воздух продувают через респирационную камеру, на входе и выходе которой ставят поглотители кислорода, углекислого газа и воды (возможен и автоматический анализ). Во вторых животное поме-

щают в герметически закрытую камеру, куда подается кислород, расход которого регистрируется; поглощение углекислоты осуществляется щелочью.

Из приборов открытого типа наибольшее распространение получил аппарат В. В. Пашутина для исследования газообмена у мелких лабораторных животных, построенный как модификация прибора Петтенкоффера и Фойта. Этому же принципу отвечают аппараты Холдана (1937), Фридеричиа (1913) и др. Аппараты указанного типа дают возможность определить суммарную величину газообмена путем регистрации потребления кислорода и выделения углекислоты.

Наибольшее распространение и признание получили аппараты с замкнутой системой, построенные по типу Рейзо и Ренье. Приборы с замкнутой системой при обработке результатов измерения требуют меньшего количества расчетов, они могут производить регистрацию потребления кислорода в динамике. Выдыхаемая углекислота связывается поглотителем и при желании может быть учтена.

По принципу аппарата Хойслера (1936) сконструирован аппарат Н. С. Правдина (1947), предложенный им для исследования газообмена у мелких животных с целью определения пороговых концентраций промышленных веществ. Аппарат портативен и по замыслу автора позволяет производить исследования непосредственно в производственных условиях. Прибор состоит из камеры для содержания животных с поглотителями для углекислоты и воды, автоматического дозирующего устройства для подачи кислорода и прибора для регистрации кислорода, потребляемого животным. Стабильная температура воздуха в камере достигается погружением ее в водяную ванну.

Существует множество методов и упрощенных модификаций исследования газообмена у животных (И. В. Саноцкий, 1961; П. Н. Веселкин, 1955; Р. П. Ольнянская и П. А. Исаакян, 1959; Е. М. Беркович, 1958; В. А. Омарова, 1958; Г. Смит, 1965; Л. Новак, 1959; М. В. Сергиевский и Ю. Н. Иванов, 1961).

В качестве газоанализаторов используются парамагнитные приборы для кислорода и кататермометры для углекислоты.

Различные клинические метаболиметры (например, системы «Медфизприбор», Казань) могут быть с успехом приспособлены для работы на мелких животных.

Для кратковременных определений потребления кислорода мелкими животными простая модификация газоанализатора предложена П. Н. Веселкиным (1955).

Для измерения количественного потребления кислорода в опытах на крысах и мышах часто применяют малую модель прибора Крога. Принцип работы прибора Крога хорошо известен и состоит в следующем: животное помещают в газгольдер, крышка которого для герметичности погружена в воду. Вода обеспечивает также стабильность температурных условий. Газгольдер заполняется кислородом, расход которого определяется по степени погружения крышки в воду и может быть записан на ленте. Поглощение выделенного животным углекислого газа обычно производится натронной известью, хотя более удобен каждый раз сменяемый раствор $NaOH$ или KOH.

Длительность поглощения белыми мышами заданного количества кислорода (100 мл) значительно варьирует, составляя 30—60 минут (М. Л. Рылова).

Зная время потребления 100 мл кислорода, можно рассчитать, какое количество кислорода за 1 час (или за 1 минуту) потребляет животное (обычно в миллилитрах на 1 кг).

Значительное распространение в гигиенических исследованиях получила модификация С. В. Миропольского.

Ход определения следующий: животное помещают в камеру (эксикатор или банку) небольшого объема. Для поглощения углекислоты на дно камеры помещают щелочь, однако так, чтобы предупредить загрязнение ее выделениями животного. Камеру оставляют в течение 5 минут открытой, не присоединяя ее к бюретке с кислородом до исчезновения ориентировочной реакции животного. Затем эксикатор закрывают и держат животное в герметическом пространстве 30 секунд. В течение указанного времени в камере создается пониженное давление воздуха, после чего присоединяют эксикатор к прибору и обеспечивают свободный доступ кислорода из бюретки к животному.

Животное находится в камере в течение 15—30 минут или при необходимости большее время. По объему воды, поступившей в бюретку в течение заданного срока, учитывают количество кислорода (в миллилитрах), поглощенного животным. Следует помнить, что потребление кислорода животным может резко колебаться.

Очень важен контроль температуры и давления атмосферы для приведения газов к нормальным условиям.

В литературе описаны опыты определения газообмена на группах животных (Л. Новак, 1959; М. Ф. Томмэ и К. Ф. Лория, 1935, 1949). Однако следует учитывать, что газообмен у изолированных животных значительно отличается от газо-

обмена у тех же животных, находящихся в группе (М. Л. Рылова, 1961).

Был приведен ряд исследований изменений газообмена под влиянием многочисленных и различных по характеру действия промышленных ядов — карбонила никеля, CCl_4, анилина, формальдегида, фурана и др. (И. В. Саноцкий, И. П. Уланова, А. И. Корбакова, К. П. Стасенкова, Г. Н. Заева и др.).

Метод оказался достаточно чувствительным и позволил установить пороги острого и хронического действия ряда веществ.

Некоторые авторы при хроническом воздействии промышленных ядов отмечают волнообразный характер изменений потребления кислорода организмом животных в динамике (И. П. Уланова и соавторы, 1961).

Следует напомнить, что состояние потребления кислорода само по себе еще не расшифровывает характера изменений организма и может зависеть от многих причин — прежде всего от состояния центральной нервной системы. Потребление кислорода обычно увеличивается при преобладании возбуждения и идет параллельно с увеличением подвижности животных.

Часто параллельно с изменением газообмена изменяются функциональное состояние и структура щитовидной железы (А. А. Голубев и др., 1959; Т. К. Никитенко, 1967).

Дифференцировать причины изменения внешнего газообмена помогают более детальные его исследования. Существует строгая зависимость между величиной потребления кислорода и теплообразованием организма. Зная количество поглощенного кислорода и выделенного углекислого газа, можно вычислить дыхательный коэффициент $\frac{(CO_2)}{O_2}$ и расход энергии в калориях (Б. И. Збарский, 1965).

Мы оставим в стороне изучение структур и функций, связанных с внешним газообменом, но не относящимся прямо к энергетическому обеспечению организма. Например, понятно, что отек легких или спазм бронхов может вызвать ослабление сердечно-сосудистой деятельности, повышение проницаемости сосудов и другие нарушения функции сердечно-сосудистой системы и крови, что в свою очередь может существенно изменить газообмен и степень насыщения крови кислородом. О состоянии важнейшей функции крови — переносе кислорода и углекислоты, а также о способности крови насыщаться кислородом позволяют судить методы оксигемометрии, а также методы прямого определения газов крови по ван Слайку (Н. К. Мешкова, С. Е. Северин, 1950). Эти методы довольно трудоемки. Гораздо проще метод определения артерио-венозной разницы по содержанию в крови кислорода, предложенный В. А. Резонтовым (1965).

Наиболее полное представление о причинах изменения внешнего дыхания дают специальные исследования окислительных процессов.

Состояние окислительных процессов в организме хорошо характеризует метод определения коэффициента кислотообразования (Г. В. Дервиз и В. Н. Смидович, 1957). Метод основан на определении отношения общего количества органических кислот, выделенных с мочой, к количеству общего азота в суточном количестве мочи. Органические кислоты являются основным промежуточным продуктом обмена. В норме наблюдается определенная зависимость между количеством органических кислот и общего азота в моче. Эта зависимость нарушается при патологических изменениях.

Состояние окислительных процессов можно изучать на тканевых срезах, гомогенатах органов или митохондриях. Для изучения окислительных процессов в различных тканях пользуются аппаратом Варбурга (Н. П. Мешкова, С. Е. Северин, 1950; В. В. Умбрейт, 1951).

Изучать тканевое дыхание можно за счет эндогенных субстратов окисления, т. е. имеющихся в самой ткани, или путем добавления извне к инкубируемым пробам различных субстратов окисления (янтарной, α-кетоглутаровой, яблочной кислоты или других кислот, подвергавшихся окислению в цикле Кребса).

Внесение добавочных субстратов окисления является нагрузкой на ферментные системы.

Добавочные субстраты окисления обычно вносят из такого расчета, чтобы конечная концентрация их в инкубируемой пробе была 0,01—0,02 М. Следует иметь в виду, что при добавлении α-кетоглутаровой кислоты как субстрата окисления необходимо вносить в пробу также и малоновую кислоту, которая, как известно, является ингибитором сукциндегидразы и, следовательно, затормаживает быстрый путь окисления янтарной кислоты, образующейся при окислении α-кетоглутаровой кислоты, и не позволяет исказить результатов окисления α-кетоглутаровой кислоты.

В процессе тканевого дыхания, при переносе электронов и протонов от субстрата окисления через цепь дыхательных катализаторов к кислороду, происходит освобождение энергии, за счет которой ресинтезируется АТФ из АДФ и неор-

ганического фосфора. Этот процесс, как известно, получил название окислительного фосфорилирования. Ферменты тканевого дыхания и сопряженного с дыханием окислительного фосфорилирования сосредоточены главным образом в митохондриях (А. А. Баев, 1960; Ф. Б. Штрауб, 1963; С. Е. Северин, 1962; Б. И. Збарский и др., 1965; И. Ф. Сейц, 1954; В. П. Скулачев, 1964). Для процессов фосфорилирования необходима неповрежденная структура митохондрий (С. Е. Северин, Ян Фу-Юй, 1960).

Для количественной характеристики эффективности ресинтеза макроэргических соединений служит коэффициент фосфорилирования (Р : О), т. е. отношение микроатомов неорганического фосфора, пошедшего на синтез богатых энергией органических соединений, к количеству микроатомов потребленного кислорода (Л. В. Мытарева, Е. П. Здродовская, 1953; Н. П. Мешкова, С. Е. Северин, 1950).

Поглощение кислорода измеряется при помощи манометрического метода Варбурга. Количество фосфатов определяется по методу Фиске — Суббароу.

Метод Варбурга, применяемый для исследования окислительных процессов в тканях и окислительного фосфорилирования, не пригоден для массового обследования животных, так как он трудоемок, требует затраты большого количества времени. В настоящее время все более широкое распространение получают методы полярографического исследования: определение кислорода в гомогенатах и срезах тканей, изучение переноса электронов и энергии в дыхательные цепи, а также исследование напряжения кислорода в тканях методом вживления электродов (И. М. Эпштейн, 1960; М. Н. Кондрашова, 1965; Н. В. Саноцкая, 1961).

При наличии аппаратуры и достаточно квалифицированных сотрудников применение этих методов может быть весьма полезным для токсикологических лабораторий, так как они менее трудоемки, чем исследование на аппарате Варбурга, и позволяют проводить в день большое количество анализов.

Очень интересен полярографический метод регистрации напряжения кислорода в тканях при помощи наложения электродов (Т. А. Попов, И. М. Эпштейн, И. П. Березин, 1966). Метод позволяет производить сравнительное сопоставление интенсивности дыхания in vivo в интактной ткани и выражать кинетику дыхания через константу скорости реакции.

Предлагаемый метод регистрации скорости потребления кислорода в живых тканях может быть использован в хроническом опыте и позволяет проследить за воздействием малых доз изучаемого вещества в течение длительного времени.

Методика опыта заключается в следующем. В бедренную мышцу крысы вводят медный амальгамированный электрод, активная поверхность которого имеет форму цилиндра (диаметр 0,3 мм и длина 8 мм). Второй электрод из углеродистой стали (диаметр 3 мм, длина 10 мм) вводят поблизости от первого под кожу. После включения поляризации цепи дается время на установление приблизительно постоянной силы диффузионного тока (5—10 минут). Затем на уровне тазобедренного сустава накладывают артериальный жгут, полностью прекращающий циркуляцию крови в конечности. После наложения жгута отмечается быстрое падение силы диффузионного тока, вызванное падением напряжения кислорода в тканях. Артериальный жгут вызывает артериальную ишемию в нижележащем участке конечности и создает замкнутую систему, при которой ткань вынуждена расходовать запасы кислорода в виде химически связанного кислорода (оксигемоглобина крови и оксимиоглобина) и физически растворенного кислорода в тканевой жидкости. Об интенсивности дыхания тканей можно судить по темпу падения напряжения кислорода. Потребление кислорода регистрируется на потенциометре марки ЭПП09 в течение 15 секунд после наложения жгута при скорости движения диаграммной ленты 9600 мм/час. Сразу после прекращения циркуляции крови в конечности возникают беспорядочные осцилляции, которые длятся 1—2 секунды, после чего начинается закономерное падение тока, отражающее процессы потребления кислорода тканью.

Авторы полярографического метода исследования напряжения кислорода в тканях живых организмов считают предлагаемый метод чувствительным тестом для веществ, вызывающих нарушение тканевого дыхания.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОРОГОВ ДЕЙСТВИЯ ЯДОВ

Из числа многочисленных биохимических методов, применяемых для изучения действия ядов на организм и определения их пороговых концентраций, значительное внимание токсикологов привлекает исследование активности ферментных систем. Это и понятно, так как именно ферментам принадлежит решающая роль в обеспечении нормального обмена веществ, что имеет определяющее значение в поддержании гомеостаза.

1. Выбор ферментных показателей

Выбор ферментных показателей при определении пороговых концентраций ядов должен обусловливаться химическими и физико-химическими свойствами исследуемого вещества. Имеющиеся в настоящее время материалы о взаимодействии ядов и ферментов (А. А. Покровский, 1962, 1962а; С. Н. Голиков, В. И. Розенгарт, 1964; Л. А. Тиунов, 1963; Webb, 1963; Hochster, Quastel и др,. 1963) позволяют с достаточной степенью достоверности предсказать, зная химическое строение вещества, какие ферментные структуры будут им повреждаться в организме. При этом необходимо учитывать близость или идентичность изучаемого соединения с известными уже ингибиторами или субстратами действия ферментов. В сфере внимания токсиколога должно быть все разнообразие механизмов ингибирующего действия химических веществ. В качестве примеров можно привести широко известные факторы ингибирования холинэстеразы фосфорорганическими соединениями, моноаминоксидазы и пиридоксалевых ферментов гидразинами и гидразидами, сульфгидрильных энзимов алкилирующими реагентами, окислителями, веществами, образующими меркаптиды (органические соединения ртути или мышьяка), и катионами тяжелых металлов; железосодержащих ферментов (цитохромы, цитохромоксидазы, каталаза, пероксидаза) цианидами и сероводородом (М. Диксон, Э. Уэбб, 1961; Д. Нейландс, П. Штумпф, 1958), диаминоксидазы и сперминоксидазы аминами и амидинами (Blaschko, Humms, 1955).

Помимо учета близости исследуемого вещества к тем или иным ингибиторам ферментных систем, следует обратить внимание на возможную близость его к субстратам действия энзимов. Ряд химических веществ, с которыми имеет дело токсиколог, являются субстратами действия определенных ферментов, что позволяет при установлении их пороговых концентраций выбрать в качестве критерия исследование активности именно данной ферментной системы. Примером могут служить опыты Л. А. Тиунова и Т. И. Соколовой (1957). Эти авторы при изучении действия на организм белых крыс и мышей паров перекиси водорода в качестве критерия токсического действия яда избрали исследование каталазы — фермента, для которого перекись водорода является субстратом.

В качестве других примеров можно привести исследование активности пероксидазы при отравлении органическими перекисями (Л. А. Тиунов, Н. В. Грохольская, Н. А. Качурина,

О. И. Смирнова и др., 1962), эстераз при отравлении эфирами ароматических кислот (Barron, 1964). Субстратами действия диаминоксидазы (гистаминазы) являются многочисленные диамины, в том числе этилендиамин, триметилендиамин, агматин, гомологи спермидина (Zeller, 1942); субстратами действия фосфогалидазы (табуназы) являются диизопропилфторфосфат, табун, зарин и другие так называемые нервные газы (Augustinsson, Heimbriger, 1954).

Однако установление идентичности или структурной близости профессионального яда к известным ингибиторам или субстратам действия ферментов еще не всегда определяет успех выбора критериев для нормирования данного вещества. Следует помнить о необходимости непосредственного контакта яда с ферментной системой. Поэтому при выборе ферментных показателей следует учитывать особенности всасывания, распределения и выведения яда из организма.

Рассмотренные выше примеры касались выбора специфических ферментных показателей действия токсического вещества. Однако в ряде случаев целесообразен выбор неспецифических ферментных показателей, особенно в случае нормирования химических соединений, не содержащих в своей структуре группировок, близких к известным ингибиторам или субстратам действия ферментов. В качестве примера можно привести исследование ферментных систем, контролируемых гормонами коры надпочечников.

Известно, что при ряде воздействий, в том числе и химических веществ, изменение функции коры надпочечника как элемента гипофиз-адреналовой системы приводит, в частности, к изменению активности трансаминаз, глюкозо-6-фосфатазы, гистаминазы и гистидиндекарбоксилазы. При выборе неспецифических ферментных показателей можно воспользоваться данными о потере ферментов клетками поврежденного органа и развитии в связи с этим гиперферментемии. Повышение активности сывороточных ферментов — неспецифическая реакция при разнообразных повреждениях организма — наступает вследствие изменения проницаемости клеточных мембран и выхода ферментов из органов и тканей в кровяное русло. Изменение проницаемости является либо результатом нарушения энергетики клетки (Bruns, 1961), либо может рассматриваться как стереотипная реакция на повреждающее воздействие (А. Ф. Блюгер, М. Л. Беленький, Я. Я. Шустер, 1964). В крови при этом повышается активность трансаминаз, альдолазы, сывороточной холинэстеразы и других ферментов. Появляются ферменты, отсутствующие в крови при нормаль-

ных условиях. Например, креатинфосфокиназа — фермент, присутствующий в мышцах, появляется в крови при повреждениях мышечной ткани. Вопросы, связанные с развитием гиперферментемий при патологических состояниях, подробно рассмотрены Б. Ф. Коровкиным (1965). Как правило, гиперферментемия является показателем уже значительных изменений.

2. Значение опытов in vitro

Правильность выбора специфических ферментных показателей для определения пороговых концентраций ядов должна быть проверена в опытах in vitro. Исследования in vitro проводятся обычно при концентрации яда в реагирующем объеме порядка $1 \cdot 10^{-3}$ М. Если при такой концентрации in vitro яд не оказывает никакого действия на исследуемую ферментную систему, то трудно ожидать, что in vivo эта система будет повреждена при действии пороговых концентраций. Существенное значение имеет правильность выбора буферного раствора и продолжительности инкубирования при 37—38° реагирующей смеси. Отчетливый эффект in vitro дает основания для проведения исследований in vivo, но не гарантирует полного совпадения результатов. Особенности поступления, распределения, превращения и выведения яда, а также нервные и гуморальные эффекты могут существенно повлиять на результаты исследований. Однако в значительном числе случаев та или иная корреляция между результатами исследования iv vitro и in vivo сохраняется. Для примера приведем выполненное Н. В. Грохольской исследование действия органических перекисей на некоторые сульфгидрильные ферменты. Исходя из того, что органические перекиси являются сильными окислителями, можно было ожидать окисления ими SH-групп и угнетения активности сульфгидрильных ферментов. На основании указанного in vitro были поставлены опыты с гомогенатами печени, куда добавлялись исследуемые вещества в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-3}$—$7{,}5 \cdot 10^{-4}$ М. После инкубации при температуре 37° в гомогенатах производилось определение активности дегидрогеназ, относящихся к группе сульфгидрильных энзимов.

Результаты этих исследований представлены в табл. 21. Активность всех исследованных ферментов оказалась заторможенной. Опыты in vivo при внутрибрюшинном введении перекисей в дозе 90 мг/кг дали почти аналогичные результаты. При действии гидроперекиси изопропилбензола активность

Таблица 21

Влияние органических перекисей на активность дегидрогеназ[1] печени белых крыс (in vitro)

Название фермента	Контроль	Гидроперекись изопропилбензола	P	Перекись метилэтилкетона	P
Альдегиддегидрогеназа	6,0±0,44	14,9±1,37	0,001	20,1±4,06	0,02
Лактикодегидрогеназа	5,5±0,26	13,3±1,12	0,001	15,4±2,17	0,01
Сукциндегидрогеназа	3,3±0,80	13,3±2,6	0,02	9,3±1,54	0,02
Цитрокодегидрогеназа	5,1±0,52	33,1±7,6	0,02	14,7±1,38	0,001
Общая дегидрогеназная активность	9,5±0,71	28,8±7,2	0,05	29,5±2,93	0,002

[1] Определение дегидрогеназной активности производилось по методу Тунберга в модификации Фридмана и Холлендера и выражалось в минутах обесцвечивания метиленовой сини.

всех изученных дегидрогеназ оказалась заторможенной и in vivo.

Для перекиси метилэтилкетона исключение составила лишь сукциндегидрогеназа (Л. А. Тиунов, Н. В. Грохольская, Н. В. Качурина и др., 1962).

При проведении опытов in vitro следует учитывать, что некоторые химические вещества, сами по себе не влияющие на активность той или иной ферментной системы, могут в организме метаболировать с образованием высокотоксичных ингибиторов ферментов. Учитывая эту возможность, исследования in vitro нецелесообразно ограничивать изучением действия яда в гомогенате какого-либо одного органа или ткани. Необходимо проведение опытов с гомогенатами различных органов при достаточном сроке инкубации.

3. Значение сроков исследования

Существенное значение при исследовании активности ферментов, особенно в острых опытах, приобретает срок, прошедший после введения яда в организм.

Для выявления ингибирующего действия в опытах in vivo необходимо учитывать, что проявление эффекта возможно лишь при достижении достаточной концентрации яда в том или ином органе. Следовательно, оптимальное время исследования после введения яда должно состоять из времени, необходимого для всасывания и распределения яда в организме, и времени, необходимого для его взаимодействия с ферментной структурой. Максимально выраженный эффект наступает далеко не всегда в первые часы после затравки. Н. В. Качурина показала, что у белых крыс, отравленных ксилидином в дозе 0,6 мг/кг, максимальные изменения активности ферментных систем наступают через 20 часов после начала опыта (табл. 22).

Таблица 22

Значение сроков исследования активности ферментных систем белых крыс после внутрибрюшинного введения им ксилидина

№ п/п	Наименование фермента	Активность фермента до затравки	Активность фермента через $1^1/_2$ часа после затравки	Активность фермента через 20 часов после затравки
1	Ксантиноксидаза печени в микромолях ксантина за 1 час на 1 г сырого веса ткани	12,07±1,11	8,65	4,52±0,66
2	Моноаминоксидаза печени в микромолях параоксифенилацетальдегида 2,4-динитрофенилгидразона за 1 час на 1 г сырого веса ткани	80,98±2,26	75,55	65,15±3,6
3	Глютаматаспарагиновая трансаминаза сыворотки в миллиграммах аминокислоты за 1 час на 100 мл сыворотки . . .	120,6 ±5,06	139,0	169,0 ±6,46
4	Глютаматаланиновая трансаминаза сыворотки в миллиграммах аминокислоты за 1 час на 100 мл сыворотки	85,9 ±3,9	99,9	137,1 ±13,1

Как следует из табл. 22, намечающееся через $1\,^1/_2$ часа угнетение активности моноаминоксидазы и ксантиноксидазы печени становится совершенно отчетливым через 20 часов.

Аналогичные данные получены и с трансаминазами сыворотки. Активация этих ферментов, лишь намечавшаяся через $1\,^1/_2$ часа, была резко выражена через 20 часов после введения яда.

Важные данные о значении сроков исследования ферментной активности при действии ядов содержатся в работе Bruns и соавторов.

Эти исследователи изучали активность ряда сывороточных ферментов (глютамикощавелевоуксусная трансаминаза, альдолаза, лактикодегидрогеназа, фосфогексоизомераза) при действии ядов энергетического обмена. Оказалось, что после введения монойодацетата максимальное повышение активности сывороточных ферментов наступает через 8 часов после инъекции.

Введение фторацетата также вызывало повышение активности ферментов с максимумом через 8 часов. В то же время максимальное повышение активности ферментов в сыворотке наступало через 2 часа после введения салиргана (Bruns, Brosswitz, Dennemann, Horn, Noltmann, 1961).

Скорость наступления максимально выраженного эффекта действия химического вещества на активность ферментной системы in vivo определяется рядом факторов. С одной стороны, это концентрация или доза токсического вещества, скорость его всасывания, распространения и взаимодействия с ферментной системой, а с другой — процессы, направленные на восстановление ферментной активности. Существенное значение имеет путь введения яда в организм. При внутривенном, ингаляционном и внутрибрюшинном введении химические вещества быстро проникают в кровь и достигают органов и тканей. При внутримышечном, внутреннем, подкожном введении или накожной аппликации скорость всасывания замедляется. В месте введения яда создается его «депо», откуда он постепенно в течение определенного времени поступает в кровь, что накладывает свой отпечаток на характер ингибирования ферментных систем в том или ином органе.

Так, например, при внутрибрюшинном введении производных гидразина, фенипразина и фенелзина происходит угнетение моноаминоксидазы головного мозга и печени. При подкожном введении этих веществ происходит угнетение моноаминоксидазы мозга, а при введении в желудок угнетается моноаминоксидаза печени (Horita, 1961).

4. Оценка значимости изменения ферментных систем при определении пороговых концентраций ядов

При использовании ферментных показателей для определения пороговых концентраций ядов исключительное значение приобретает оценка значимости изменений активности

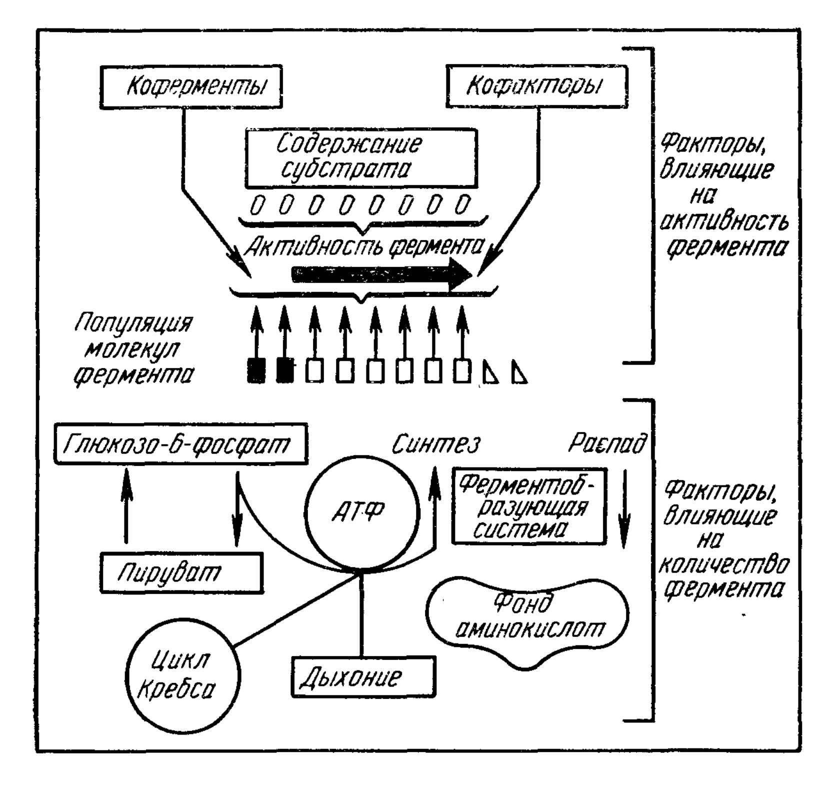


Рис. 53. Факторы, влияющие на активность и количество ферментов (по Дж. Вебер, 1964).

того или иного энзима. Для правильной оценки необходимо иметь представление, от чего зависит активность ферментов в организме. Вебер (1964) указывает, что активность энзимов зависит от действия двух групп факторов (рис. 53). Первая группа — факторы, влияющие на количество молекул фер-

мента в организме («популяция молекул фермента»). Численность популяции молекул фермента в организме зависит от функционирования ферментобразующей системы, гормональной регуляции ее работы, сбалансированного набора аминокислот и процессов, поставляющих энергию для синтеза. Вторая группа — факторы, влияющие на активность фермента. К ним относятся природные активаторы и ингибиторы, концентрация кофермента и субстрата. Особое значение имеет концентрация субстрата. Как правило, концентрация субстрата в организме такова, что фермент работает далеко не с полной нагрузкой. Определенное количество молекул фермента остается резервным. Такая неполная «загрузка» фермента имеет, по-видимому, вполне определенный физиологический смысл. При экстраординарных событиях, сопровождающихся резким увеличением концентрации субстрата, организм успевает обеспечить его быстрое метаболирование путем включения в реакцию «резервных» молекул фермента.

При исследовании активности той или иной ферментной системы мы искусственно создаем оптимальные условия, при которых определяем «полную» активность энзима.

Изменение активности ферментов при действии на организм химических веществ может выражаться либо уменьшением активности, либо увеличением активности, либо изменениями в соотношениях активности ряда ферментных систем.

Уменьшение активности ферментной системы. При оценке значимости угнетения ферментной активности под влиянием химического вещества необходимо учитывать, что обнаруженное угнетение еще не свидетельствует с полной определенностью о нарушении процесса, контролируемого данным ферментом. Снижение активности фермента может объясняться некоторым уменьшением числа его «резервных» молекул. Для доказательства значимости наблюдаемого уменьшения ферментной активности и его влияния на определенном участке обмена веществ целесообразно параллельное определение содержания субстрата в организме. Если снижение активности фермента сопровождается нарастанием концентрации субстрата, то пренебречь указанным нарушением нельзя. Любое статистически достоверное увеличение концентрации субстрата в органе одновременно с уменьшением активности соответствующего фермента свидетельствует о глубоком нарушении гомеостаза.

Например, при повторных введениях белым крысам 3-амино-1, 2, 4-триазола в дозе 500 мг/кг было обнаружено, что

активность каталазы печени уменьшалась на 50%, а концентрация субстрата эндогенной перекиси водорода возросла с 3,5 до 5,93 γ/г сырого веса ткани. Приведенные данные, полученные А. Л. Бандманом, Т. И. Соколовой и Л. В. Смирновой, свидетельствуют о значимости изменений активности каталазы, так как они отразились на содержании ее субстрата — перекиси водорода. Эти изменения должны быть оценены как весьма существенные.

Если определение содержания субстрата параллельно с определением активности фермента произвести по тем или иным причинам не удается, можно рекомендовать оценку полученных изменений активности фермента методом «нагрузочных проб». Смысл приема состоит в том, чтобы создать в организме определенный избыток субстрата. При этом если уменьшение активности фермента несущественно, то в условиях избытка субстрата организм не будет поврежден и, наоборот, при значимом уменьшении активности фермента избыток введенного извне субстрата вызывает отчетливые изменения жизнедеятельности или даже гибель организма. В качестве примера можно привести опыт, выполненный М. А. Ахматовой с этилендиамином. Этот яд в дозе 300 мг/кг у белых крыс вызывал некоторое изменение активности моноаминоксидазы печени. Следовало оценить значимость указанного изменения. Вопрос был решен с использованием «нагрузочной пробы». Отравленным этилендиамином белым крысам был дважды введен внутрибрюшинно субстрат моноаминоксидазы — серотонин в дозе 30 мг/кг (табл. 23).

Таблица 23

«Нагрузочная проба» с серотонином

№ п/п	Наименование веществ	Доза в мг/кг	Количество животных	Погибло	Выжило	P
1	Этилендиамин	300	10	0	10	
2	Серотонин	30 дважды через 24 часа	10	1	9	0,004
3	Этилендиамин и серотонин	Этилендиамин — 300 мг/кг, серотонин дважды по 30 мг/кг	10	6	4	

Результаты, представленные в табл. 23, свидетельствуют о том, что изменения активности моноаминоксидазы, наступившие под влиянием этилендиамина, были, по-видимому, значимыми, так как при нагрузке избытком субстрата зарегистрирована значительная смертность подопытных животных.

Наконец, при оценке значимости уменьшения активности тех или иных ферментных систем в организме под воздействием яда следует помнить об их неравнозначности. На это уже обращалось внимание в литературе при обсуждении вопросов гигиенического нормирования химических веществ (Л. А. Тиунов, Г. А. Васильев, 1966). Есть ряд ферментов, занимающих ключевые позиции в обмене веществ. Изменения активности этих ферментов весьма значимы и могут быть учтены, по нашему мнению, без исследования содержания субстрата или применения нагрузочных проб. В метаболических циклах ключевые ферменты лимитируют течение всего процесса. Если представить себе метаболический цикл в виде песочных часов, то узкое место в них будет принадлежать ключевой ферментной системе. К ключевым ферментным системам можно отнести, в частности, аспартаткарбамилтрансферазу, занимающую ведущее положение в реакциях синтеза пиримидинов из простых предшественников — аммиака и углекислоты. Активность этого фермента, регулируемая по принципу обратной связи, определяет степень использования карбамилфосфата для синтеза пиримидинов. При снижении активности этого фермента карбамилфосфат будет использоваться в цитруллиновом цикле.

Другим примером может служить ферментная система тимидилатсинтетазы, обеспечивающей образование тимидиловой кислоты при метилировании дезоксиуридин-5-фосфата. Скорость синтеза тимидилового нуклеотида лимитирует синтез ДНК. Оба этих примера рассмотрены в работе Н. А. Качуриной и Л. А. Тиунова (1965).

Ключевой ферментной системой в реакциях окисления глюкозы через пентозный шунт является транскетолаза. В дыхательной цепи важное значение имеют дегидрогеназные системы, определяющие, какие субстраты будут окисляться. В синтезе пиридоксалевых ферментов центральное место принадлежит пиридоксалькиназе, в реакциях превращения углеводов — гексокиназе.

Увеличение активности ферментных систем. В ряде случаев при определении пороговых концентраций или доз химических веществ с использованием в качестве критерия ферментных

показателей отмечается повышение активности исследуемых энзимов, что может явиться результатом увеличения популяции молекул фермента за счет усиления его синтеза.

В качестве примера можно привести образование адаптивных ферментов. Наиболее распространенным и широко известным является случай усиления синтеза в печени белых крыс триптофанпирролазы в ответ на введение триптофана. Когда профессиональный яд, являясь субстратом действия фермента, вызывает увеличение его активности, это прямо свидетельствует о перегрузке в работе ферментобразующей системы и должно рассматриваться как свидетельство недопустимости изучаемых концентраций (Э. Б. Курляндская, И. В. Саноцкий, 1965).

Помимо прямой индукции, увеличение активности ферментов может быть проявлением неспецифического действия яда как следствие гормональных влияний и особенно как результат перераспределения фермента в организме в результате нарушения проницаемости клеточных мембран, о чем уже говорилось выше.

Изменения в соотношениях активности ферментных систем. Об изменении активности ферментных систем могут свидетельствовать изменения в соотношениях наборов энзимов, характерных для определенной ткани или органа. Так, А. А. Покровским (1960, 1964) описаны ферментные спектры крови в норме у различных лабораторных животных и человека. Было установлено, что соотношение активности различных ферментных систем является величиной достаточно постоянной.

В наших исследованиях соотношение активности различных ферментных систем при воздействии химических веществ изучалось применительно к ферментным системам, связанным в определенном метаболическом цикле. Например, при действии некоторых ядов регистрируются нарушения в обмене биогенных аминов. Для оценки активности энзимов данных метаболических циклов исследовался набор из трех ферментов: моноаминоксидазы, каталазы и альдегиддегидрогеназы (ксантиноксидазы). Опыты Н. А. Качуриной показали возможность производить оценку действия химических веществ на организм по изменению активности ряда ферментов одного метаболического цикла. Такие исследования позволяют иногда обнаружить изменения, ускользающие от экспериментатора при изучении активности отдельных ферментных систем.

5. Заключительные замечания

Широкое использование ферментных показателей позволяет с высокой степенью точности определять пороги действия химических веществ. Таким образом, исследование активности ферментов становится обычным методическим приемом в работе токсиколога. В качестве примера использования ферментных показателей для установления порога действия аммиака, ацетона, окиси углерода можно привести работы, выполненные В. В. Кустовым с соавторами (В. В. Кустов и др., 1962; В. В. Кустов, В. И. Михайлов, 1966).

Для иллюстрации изложенного материала приведем конкретный случай использования ферментного показателя при установлении порога действия химического вещества.

Задача работы. Определить порог действия паров уксусной кислоты в опытах на белых мышах при 2-часовой экспозиции.

Выбор критерия. Уксусная кислота в организме, метаболируя в лимоннокислом цикле Кребса до углекислоты и воды, частично активируется, и в форме ацетилкоэнзима А используется в разнообразных синтезах. Из их числа наибольшее значение имеет, по-видимому, синтез такого биологически высокоактивного вещества, как ацетилхолин.

Можно было предположить, что вдыхание паров уксусной кислоты вызовет определенный сдвиг в системе ацетилхолин — холинэстераза. Указанная биохимическая система и была выбрана в качестве одного из критериев при установлении порога действия паров уксусной кислоты на белых мышей.

Проведение работы. Белые мыши подвергались 2-часовому ингаляционному воздействию паров уксусной кислоты в концентрациях 0,008, 0,01, 0,035 мг/л.

Сразу после затравки производилось определение содержания в крови ацетилхолина по методу Л. Я. Лившиц и В. И. Рубина (1961) и холинэстеразы по методу А. А. Покровского (1961). Результаты представлены в табл. 24.

Как следует из табл. 24, повышение содержания ацетилхолина отмечалось в крови при действии паров уксусной кислоты в концентрации 0,010 мг/л. При этом наблюдалось и некоторое увеличение активности холинэстеразы.

Таким образом, исследование ферментсубстратных соотношений позволило определить порог действия паров уксусной кислоты на белых мышей при 2-часовой экспозиции, равный

Таблица 24

Влияние паров уксусной кислоты на содержание ацетилхолина в крови белых мышей

№ п/п	Концентрация паров уксусной кислоты в мг/л	Число животных	Содержание ацетилхолина в крови в мкг/мл	Р по сравнению с контролем
1	Контроль	11	112±2,5	
2	0,008	11	116±2,2	>0,05
3	0,010	21	127±1,36	<0,001
4	0,035	10	132±2,3	<0,001

0,010 мг/л. Для сравнения следует указать, что раздражающее действие паров уксусной кислоты у человека отмечается при действии концентраций порядка 0,1 мг/л (Н. В. Лазарев, 1954).

Следовательно, в данном случае использование биохимического показателя позволило успешно решить токсикологическую задачу по установлению порога действия химического вещества.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИЗУЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ САМЦОВ И САМОК ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Время гигантского развития химии выдвинуло ряд проблем, разрешение которых не терпит отлагательства. К ним, в частности, относится проблема ограждения грядущих поколений человечества от опасности действия массы новых химических веществ на половые клетки — материальные носители наследственности.

По сведениям иностранных авторов, на 5 случаев смертности детей от инфекционных заболеваний, которых опасались более всего, приходится 10 случаев смерти в результате врожденных уродств.

Описанные изменения не могут объясняться только воздействием ионизирующей радиации. За последние годы открыто несколько сотен химических мутагенов, среди которых многие оказались значительно активнее ионизирующей радиации (Ш. Ауэрбах, 1959; И. А. Рапопорт, 1966 и др.). Таким образом, изучение влияния химических продуктов на размножение и потомство весьма актуально.

Как правило, исследования мутагенной активности химических соединений проводятся в опытах на дрозофилах или на бактериальных и тканевых культурах (обычно эти опыты не преследуют цели установления порога вредного действия).

Между тем у высших организмов относительно хорошо развиты системы защиты: тканевые барьеры, разнообразные пищеварительные тканевые и клеточные ферменты, разрушающие мутаген (Н. К. Кольцов, 1938; И. К. Шахова, 1965; Müller, 1955; К. Штерн, 1965). В силу указанного многие вещества,

обладающие мутагенным эффектом в модельных опытах, не обнаружили мутагенной активности в целостном организме млекопитающих. Например, кофеин оказался высокоактивным мутагеном для растений, дрозофилы и культуры бактериальных клеток, но не оказал мутагенного действия на организм млекопитающих.

Одной из основных линий исследования проблемы генетической опасности химических агентов являются наблюдения над половой функцией, а также развитием потомства людей, которые по роду своей деятельности имели контакт с теми или иными вредными веществами; анализ заболеваемости указанных лиц по сравнению с заболеваемостью их потомства («Генетика человека и общественное здравоохранение». Хроника ВОЗ, 1965).

На практике описанные исследования часто оказываются затруднительными и весьма сложными в связи с многочисленностью воздействующих факторов. В этой связи большое значение приобретают модельные опыты на теплокровных животных разных видов, поскольку чувствительность половых клеток разных видов различна.

Последствия поражения генетических структур в половых клетках могут проявиться в нарушении оплодотворяющей способности или способности к зачатию, в нарушении внутриутробного развития плода (гибель, остановка развития на разных стадиях беременности), а также в последующих поколениях — не всегда первого, а может быть, и третьего и четвертого. Необходимо учитывать также и соматические мутации, среди которых наиболее грозными являются такие, которые приводят к злокачественным опухолям и лейкозам.

В настоящем разделе кратко излагаются методики изучения в токсикологических исследованиях состояния сперматогенеза и овогенеза, функционального состояния сперматозоидов, овариально-эстральной функции, методики изучения внутриутробного развития плода у мелких животных, а также некоторые аспекты изучения развития потомства.

Изучение сперматогенеза и овогенеза

При исследовании семенников и яичников применяют ряд методов; прежде всего — наружный осмотр, определение весовых коэффициентов: отношение веса органа к весу тела (измеряют размеры, объем органа — путем погружения в воду). Считается целесообразным определять удельный вес семенника

(отношение веса к объему), который дает некоторое представление о содержании в нем воды.

Однако перечисленные методы позволяют выявить лишь грубую атрофию и не применяются нами при установлении порогов гонадотропного эффекта.

Более тонкие изменения выявляют с помощью гистологических, гистохимических и биохимических методов.

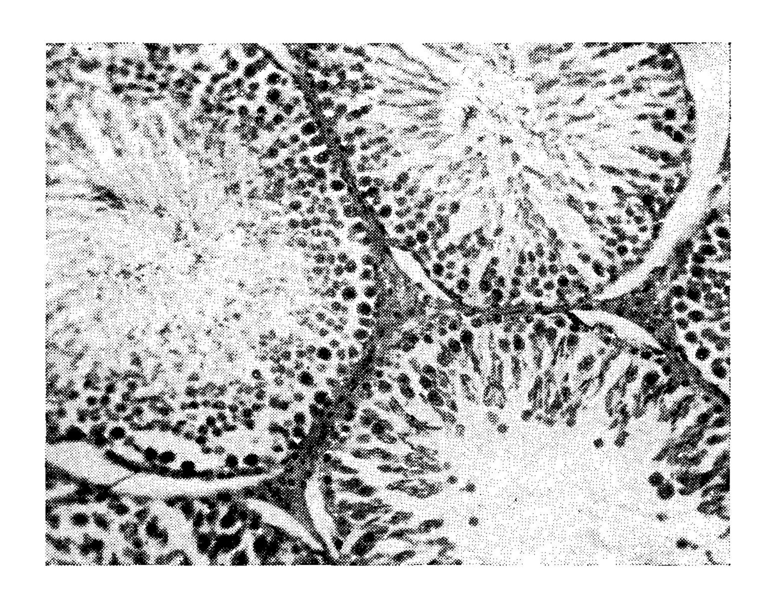


Рис. 54. Семенник крысы. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 300×.

Для гистологического исследования семенник фиксируют в 15% нейтральном формалине или фиксаторе Карнуа (Г. А. Меркулов, 1961; Б. Ромейс, 1953; Г. И. Роскин), заливают в парафин, режут тонкие срезы (до 10 мк), окрашивают гематоксилин-эозином (рис. 54).

В процессе сперматогенеза различают четыре периода, или фазы (В. Г. Елисеев, 1963). Период размножения характеризуется частыми кариокинетическими делениями сперматогоний, которые занимают наиболее периферическое положение в слое сперматогенного эпителия семенного канальца и лежат непосредственно на базальной мембране (имеют круглые или овальные ядра).

Период роста характеризуется быстрым увеличением размеров и объема переставших делиться сперматогоний, которые превращаются в сперматоциты первого порядка.

Третий период носит название периода созревания. Этот период включает в себя два деления сперматогенных клеток. Сначала сперматоцит первого порядка делится на 2 сперматоцита второго порядка (при этом остается половина хромосом). Сперматоциты второго порядка немедленно, без сколько-нибудь выраженного периода интеркинеза делятся вновь. В результате этого деления образуются сперматиды. Четвертый период — период формирования зрелых сперматозоидов, у которых гаплоидный (половинный) набор хромосом.

Для оценки незаметных на глаз изменений необходимы количественные критерии, так как и у здоровых животных встречаются семенные канальцы с явлениями атрофии. Такие критерии были разработаны рядом исследователей. Так, Fogg и Coning (цит. по Н. И. Нуждину с соавторами, 1959) предложили оценивать 100 канальцев на поперечном срезе семенника (см. рис. 54). Если в одном канальце существуют все четыре слоя семяродного эпителия [1) сперматогонии, 2) сперматоциты первого порядка, 3) сперматоцита второго порядка и сперматогонии, 4) зрелые сперматозоиды — с хвостами], то этот каналец получает оценку в 4 балла. Если в канальцах первые 3 слоя — 3 балла, если 2 — 2 балла, если один ряд сперматогоний — 1 балл, полная атрофия семяродного эпителия — 0 баллов. Данные о всех 100 канальцах обычно регистрируются на сетке 10 × 10 квадратов. В каждый квадрат записывают и качественные изменения: слущивание эпителия или предшествующие отслоению от базальной мембраны дегенеративные явления («окна» в эпителии, кариорексис и др.), наличие гигантских клеток и т. д.

Н. И. Нуждин с соавторами (1959) модифицировал методику Фогга и Коуинга. Предложено условно считать три слоя: 1) сперматогонии; 2) сперматоциты первого и второго порядка; 3) зрелые сперматозоиды.

Все индексы канальцев суммируют и делят на 100.

Так получают средний индекс сперматогенеза (максимум 4 балла или 3 балла в модификации Н. И. Нуждина и соавторов).

Практика применения методов подсчета индекса сперматогенеза при воздействии гонадотропных ядов показала, что он относительно мало чувствителен и изменяется лишь при значительном повреждении семенника. Более чувствителен подсчет канальцев со слущенным эпителием (в процентах при

оценке 100 канальцев), а также среднего количества сперматогоний (первый ряд клеток на базальной мембране) при оценке 20 канальцев (умерщвление животных через 24 часа после воздействия).

В наших работах использовалась четырехбалльная оценка состояния сперматогенного эпителия, а именно фиксировалось наличие в канальце сперматогоний, сперматоцитов первого или второго порядка, сперматид и сперматозоидов, затем вычислялся индекс сперматогенеза:

$$\frac{\Sigma A}{100},$$

где A — число стадий в каждом канальце; 100 — число подсчитанных канальцев.

При действии многих профессиональных ядов у животных было обнаружено в семенниках изменение перечисленных вы-

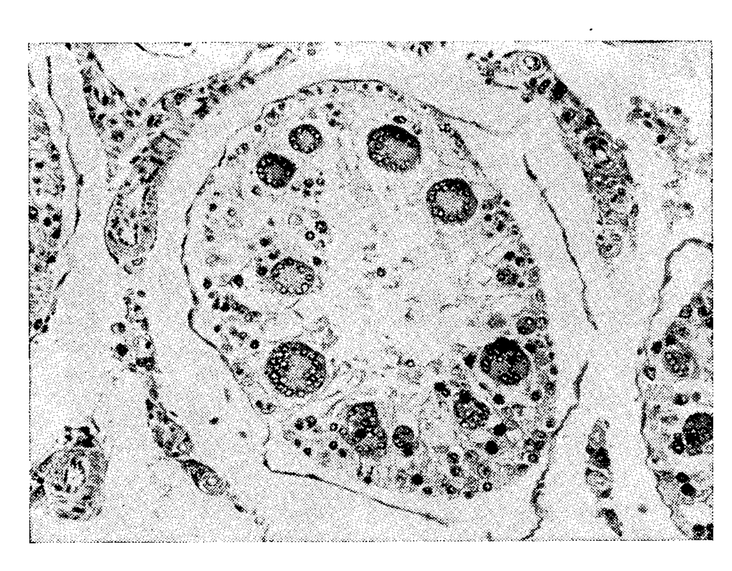


Рис. 55. Снижение индекса сперматогенеза, появление гигантских форм клеток в семенниках крыс. Ингаляционное воздействие этиленимина в концентрации 0,01 мг/л в течение 30 дней. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 300×.

ше показателей. Так, при действии этиленимина в концентрации 0,01 мг/л в течение 30 дней выявлено снижение индекса сперматогенеза, появление гигантских форм клеток (много-

ядерные клетки), увеличение числа канальцев со слущиванием сперматогенного эпителия (рис. 55). Те же явления отмечены при действии свинца, ртути и ртути совместно с ионизирующим облучением. При действии на крыс третбутилперацетата в остром и хроническом опытах найдено уменьшение числа сперматогоний, увеличение дегенеративных форм сперматогоний, увеличение слущивания зародышевого эпителия (рис. 56). В хроническом опыте, кроме того, обнаружено увеличение числа канальцев с 12-й стадией мейоза (метафаза второго деления созревания), что, возможно, говорит об остановке мейоза на этой стадии и нарушении процессов формирования зрелых форм сперматозоидов.



Рис. 56. Слущивание зародышевого эпителия в канальце семенника белой крысы. Однократное ингаляционное воздействие третбутилперацетата в концентрации 0,02 мг/л. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 100×.

Подсчет индекса сперматогенеза и слущивания эпителия (наименее трудоемкий из всех перечисленных методов), возможен в остром опыте с целью приблизительной оценки выраженности гонадотропного действия.

В хронических опытах на завершающем этапе с целью более полного анализа действия вещества, кроме подсчета индекса

сперматогенеза и слущивания эпителия, лучше производить подсчет сперматогоний нормальных и патологических в 20 канальцах, подсчет наличия 12-й стадии мейоза в 100 канальцах.

При морфологической оценке яичников мелких животных после фиксации в формалине или в жидкости Карнау препарат заливают в парафин, делают послойные серийные гистотопографические срезы яичника толщиной 6 мк (рис. 57).

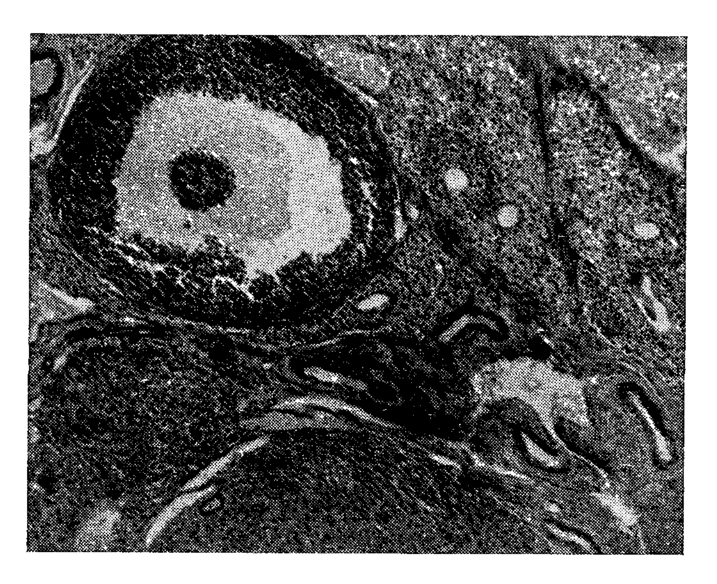


Рис. 57. Яичник крысы. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 100×.

Подсчет структурно-функциональных элементов яичника проводится по всей поверхности органа по методу Mandl и Zucherman (1951, 1952). При анализе структурных компонентов яичника в каждом пятом срезе производится подсчет созревающих фолликулов, имеющих от 2 до 4 слоев гранулезных клеток и более, граафовых пузырьков и атретических фолликулов с умножением на 5. В каждом десятом срезе подсчитываются примордиальные фолликулы и фолликулы с одним слоем гранулезных клеток с умножением на 10. При учете структурно-функциональных элементов яичника принимаются во внимание только ооциты при наличии ядрышка в ядре. После подсчета структурных компонентов во всем яичнике полученный цифровой материал обрабатывался по формуле Аберкром-

би (цит. по Mandel и Zuckerman, 1951) для получения более точных данных:

$$P = A \frac{M}{M + Z},$$

где P — среднее количество ядер; A — количество ядрышек; M — толщина среза; Z — диаметр ядрышек.

Диаметр ядрышек измеряется с помощью окуляр-микрометра.

Кроме того, рекомендуется проводить количественное изучение соединительнотканной стромы яичников путем измерения площади соединительной ткани яичника планиметром на фотографии срединного среза одного масштаба или путем вырезания на фотографии участка, соответствующего слою соединительной ткани, и взвешивания вырезки. Н. О. Мелик-Алавердян (1964) рекомендует производить подсчет абсолютного количества желтых тел при помощи отбрасывания картины среза оптически на экране.

Из гистохимических методов исследования широко применяется метод определения в семенниках и яичниках РНК и ДНК по Браше (1957) (Abraham, Bhargava, 1963; Г. М. Егорова с соавторами, 1966). Как известно, пиронин в смеси Паппенгейма (метиловый зеленый, пиронин) обладает избирательным сродством к РНК как ядра, так и протоплазмы. В методике Браше используется параллельно два среза: один из них подвергается действию рибонуклеазы, а затем оба окрашиваются метиловым зеленым — пиронином, или же 1% водным раствором толуидинового синего. Считается, что материал, окрашивающийся в синий цвет толуидиновым синим или в красный пиронином и исчезающий при обработке рибонуклеазой, представляет собой РНК.

Как известно, синтез нуклеиновых кислот, особенно РНК, которая содержится в хромосомах, связан с митозом (Э. Пирс, 1962; Ж. Браше, 1961). Поэтому нарушение указанного синтеза на том или ином уровне сперматогенеза является надежным индикатором повреждения митоза.

Биохимический метод определения нуклеиновых кислот в гомогенатах гонад менее показателен, ибо, как установлено, например, Г. М. Егоровой при воздействии свинца нуклеиновые кислоты могут перераспределяться между различными генерациями половых клеток — в одних слоях увеличиваться, в других уменьшаться. Таким образом, общие изменения могут оказаться нивелированными. По нашим данным, более чувствительным тестом является активность нуклеаз (метод

определения описан Schneider, 1952), которые часто угнетаются при дозах и концентрациях, еще не вызывающих морфологических изменений.

Кроме указанных, можно перечислить еще ряд методов, применяемых в различных лабораториях: включение метионина-S^{35} в различные клеточные элементы семенных канальцев (В. В. Маховко, Ю. В. Панин, 1962), включение в ткань семенников in vivo азотистых оснований нуклеиновых кислот, меченных по C^{14} (Monesi, 1964), определение в семенниках цинка (Гунн, Шельма, Андерсон, 1965).

Достаточно хорошо химический состав семенников изучен при атрофии, вызванной ионизирующей радиацией. Так, А. М. Алексеева, Н. М. Тимофеева (1959) определяли в облученных семенниках следующие компоненты: содержание воды, сухой остаток, креатин, общий азот, остаточный азот, общий фосфор, белковый фосфор, АТФ и неорганический фосфор. Эти показатели могут быть использованы и при химическом поражении сперматогенеза.

Имеются попытки судить о функциональном состоянии семенников и об их активности по содержанию 17-кетостероидов в моче (Zimmermann, 1955).

Исследования состояния спермы и полового цикла

В литературе встречаются работы, касающиеся разработки методов получения эякулята. Birnbaum, Holl (1961) описали способ стимуляции эякуляции у крыс с помощью специальных ректальных электродов и электростимулятора. Лоуренс и Карпах (1963) разработали метод получения эякулята у морских свинок.

У собак и кроликов возможно взятие спермы при помощи искусственного резинового влагалища со стеклянным спермоприемником (В. К. Милованов, 1962).

Мы пользуемся суспензией сперматозоидов, полученной при продольном разрезании придатка семенника крысы[1], и дозированном (2 минуты) перемешивании его в 2 мл физиологического раствора на часовом стекле (температура раствора +20°).

Концентрация сперматозоидов может быть измерена путем набора жидкости в меланжер для лейкоцитов и подсчета в камере Горяева; кроме того, могут быть приготовлены мазки (одну каплю взвеси наносят на предметное стекло, подсушивают на воздухе, окрашивают красителем) для подсчета относ-

[1] У крысы сперматозоиды крупные, что удобно для наблюдения.

сительного количества дегенеративных форм сперматозоидов. Дегенеративные формы очень многообразны, чаще всего встречаются петли хвоста, когда последний прирастает к головке сперматозоида.

В работе Maroulis (1962) приводится сравнительное изучение семенников и спермы бесплодных и здоровых мужчин (в основном секционный материал). Установлено, что у бесплодных мужчин имеются изменения как в семенниках, так и в сперме: обнаружено образование многоядерных форм сперматид, сперматогоний, в сперме много сперматозоидов с множественными хвостами. В многоядерных клетках ядра легко подвергаются дегенерации — кариорексису и кариолизису.

О функциональном состоянии сперматозоидов можно судить по характеру и длительности их движений (В. К. Милованов, 1962; Е. А. Чакырев, Ч. К. Начев, 1963; Maroulis, 1962; Hancock, Show, 1955; Bishop, 1962, и др.).

Интересна работа Е. А. Чакырева и Ч. К. Начева, которые предлагают сперматокинеграфический анализ семенной жидкости (работа проведена на крупных животных — быках). Для микрокинофотосъемки разведенного в глюкозофосфатном буфере или физиологическом растворе эякулята использована камера Бюркера. Этот метод позволяет оценить подвижность сперматозоидов, их число, относительное количество подвижных сперматозоидов, характер движения большого числа сперматозоидов, установить максимальную, среднюю и индивидуальную скорость движения с большой точностью. Авторы исследовали сперму у 300 бесплодных мужчин и выявили так называемые вибрирующие формы сперматозоидов. Установлено, что спермии с вибрирующей головкой или хвостом встречаются при нарушении обмена веществ в сперме; спермии с боковой вибрацией появляются при структурных нарушениях в процессе сперматогенеза.

В ранних работах получил большое распространение метод В. К. Милованова: подвижность сперматозоидов в сперме или во взвеси оценивалась по баллам. Однако впоследствии стали применяться объективные количественные методы оценки как скорости движения (например, время пересечения сторон большого квадрата в камере Горяева или движение в капиллярах — горизонтальных и вертикальных), так и времени подвижности.

Среди последних удобны две модификации. Г. М. Егорова (1966) предложила наносить стандартную каплю суспензии спермы на предметное стекло с лунками, ставить на обогреваемый столик (либо электронагревание, либо подсоединение

медной трубки на медной площадке с отверстием к водяному ультратермостату) при 24° и отмечать время полного прекращения подвижности.

С помощью указанной модификации у животных, подвергнутых хроническому воздействию хлористого этила, удалось выявить укорочение длительности движений сперматозоидов при отсутствии каких-либо функциональных и морфологических признаков интоксикации (М. М. Авхименко, 1966).

При длительном воздействии этиленимина в концентрации 0,7 мг/м^3 у части животных время подвижности сперматозоидов значительно уменьшалось при неизменном индексе сперматогенеза (Г. Н. Заева и соавторы, 1966).

Следует указать, что при данном изучении подвижности сперматозоидов речь идет не только об энергетических запасах в спермиях, но и об их осмотической стойкости, так как открытая капля начинает высыхать.

Этого не случается, если капли помещают на предметное стекло во влажную камеру (чашка Петри, закрытая обыкновенным стеклом; крышка чашки Петри не пригодна ввиду плохих оптических свойств). В последнем случае сперматозоиды в норме двигаются 6—7 часов и более. Однако и эта модификация не полностью удовлетворяет, так как более статистически значимо не TE_{100}, а TE_{50} (время прекращения движений половины спермиев).

Может быть осуществлен метод покадровой съемки движущегося поля сперматозоидов с последующим наложением кадров в проекции. Этим методом возможно не только установить TE_{50}, но и объективно зарегистрировать патологические формы движений, такие, например, как агглютинация. Для съемок удобен специальный отечественный микроскоп МБИ-12 (с термостатом и реле экспозиций).

Вопрос о причинах движения сперматозоидов весьма сложен. Высказывания различных авторов противоречат друг другу. Возможно, это объясняется тем, что многие из них работали на различных видах животных. Так, И. И. Иванов (1937) утверждает, что движение сперматозоидов млекопитающих (бык), взвешенных в солевых средах, осуществляется за счет энергии не гликолитического, а дыхательного процесса, причем субстратом дыхания в этом случае являются вещества неуглеводного характера. В пользу такого представления о возможной роли неуглеводного обмена говорит и факт сохранения подвижности сперматозоидов при доступе воздуха в средах, отравленных монобромацетатом.

Однако в присутствии добавленных извне углеводов (глюкозы) сперматозоиды расщепляют экзогенный субстрат, получая возможность использовать энергию гликолиза. Ж. Браше (1957) и Манн (1954) подчеркивают важное значение углеводного обмена и особенно количества содержащейся в сперме фруктозы для функции сперматозоидов. Потребление фруктозы, которая, по их мнению, является экзогенным субстратом, представляет собой анаэробный процесс, что обеспечивает длительную подвижность сперматозоидов в анаэробных условиях. Вместе с тем в лаборатории токсикологии Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР было показано, что угнетение подвижности сперматозоидов при отравлении эфирами фторорганических кислот связано с угнетением дыхания клеток.

Таким образом, сперматозоиды обладают весьма выраженными катаболическими процессами. Эти клетки богаты субстратом и митохондриями и обладают весьма интенсивным дыханием. С другой стороны, по мнению Ж. Браше (1957), обмен белков и нуклеиновых кислот в этих клетках чрезвычайно незначителен, а может быть, не происходит вообще.

Из других биохимических исследований целесообразно напомнить работы Raboch и Homolka (1961), которые определяли активность кислой фосфатазы в семенной жидкости. Schirren (1963) определял в семенной жидкости содержание фруктозы и нашел определенную связь между содержанием последней и плодовитостью мужчин. Однако все подобные исследования являются, если рассматривать их в прикладном плане, вспомогательными. Большее значение представляет определение в сперматозоидах активности гиалуронидазы, поскольку с последней, как полагают, связан процесс внедрения головки спермия в яйцеклетку.

Изучение эстрального цикла методом влагалищных мазков, как известно, введено в практику Папаниколау.

Было установлено, что у мелких грызунов течковый цикл протекает обычно в 4 дня. Определено четыре стадии течки (табл. 25).

Методика изучения эстрального цикла сводится к ежедневному погружению во влагалище самки спички с ватным тампоном и перенесение мазка в каплю с водой на предметном стекле.

Мазки могут быть окрашены любым способом (удобно гематоксилин-эозином), однако наметанный глаз по степени мутности капли может определить стадию течки. Результаты наносят на диаграммы. Обычно химические вещества задерживают цикл в стадии покоя, однако возможна атипичная продленная на несколько дней течка.

Таблица 25

Стадии течки

Стадия	Название	Элементы мазка		
		крупные чешуйки	кубические клетки	лейкоциты
I	Диэструс (покой)	слизь		+
II	Проэструс (предтечка)		+	
III	Эструс (течка)	+		
IV	Метаэструс (послетечка)	+	+	+

Следует указать, что при длительном непрерывном взятии мазков (дольше 2 недель) у самок могут развиться вагиниты, поэтому в хроническом эксперименте целесообразно делить животных на две подгруппы, которые поочередно подвергаются исследованию. Исследование течки необходимо не только для характеристики функции яичника, но и для определения точного срока начала беременности.

Для этого самку подсаживают к самцу в стадии предтечки (обычно по 3—4 самки на одного самца). На следующий день определяют наличие сперматозоидов во влагалищном мазке. Если сперматозоиды обнаружены, беременность считается с этого дня. Другим признаком начала беременности служит влагалищная пробка и остановка течкового цикла в стадии покоя.

Исследования эмбрионального развития

В настоящее время методы выявления эмбриотропных свойств химических веществ в эксперименте не представляют больших затруднений.

Проблеме тератогенеза посвящены многочисленные сообщения (В. И. Бодяжина, 1964; М. А. Петров-Маслаков, 1964; Э. Д. Маневич, 1966; Karnofsky, 1964, и др.).

Исследования эмбрионального развития сводятся к умерщвлению оплодотворенных самок в разные сроки после зачатия (в зависимости от цели опыта). В ранние сроки яйцо для исследования может быть вымыто из яйцеводов.

В табл. 26 показаны сроки основных периодов беременности у крыс и мышей.

Таблица 26

Сроки основных периодов беременности у крыс и мышей

Вид	Сроки периодов (дни)			
	имплантация	плацентация	органогенез	рост
Мыши	4—5	9—10	11	—
Крысы	4—5	10—12	15—16	После 16

Действие химического агента может быть исследовано в течение всей беременности (тератогенное действие) или в различные периоды беременности для изучения так называемых критических периодов, когда чувствительность эмбриона повышена. Большинство авторов (П. Г. Светлов, 1960; А. П. Дыбан, 1959, и др.) связывают «критические периоды» с имплантацией, плацентацией, а также с моментом закладки органов и ростом плода (начало и вторая половина беременности).

Изучение эмбриотропного действия исследуемых соединений должно проводиться с учетом эстрального цикла подопытных животных. Самок забивают перед родами (на 19—20-й день беременности), так как нежизнеспособные детеныши обычно поедаются самками после родов, что затрудняет учет результатов эксперимента. Однако половину самок все-таки целесообразно довести до родов, чтобы проследить развитие потомства, так как внешне здоровый плод иногда может проявить свою пониженную (или повышенную) жизнеспособность только в процессе послеутробного развития.

При вскрытии самок осматривают трубы матки, подсчитывают количество, равномерность распределения, размеры эмбрионов, определяют, живые они или мертвые (движение на укол иглой), а также производят морфологическое их исследование. Wilson (1965) рекомендует для макроскопии фиксировать плод целиком в жидкости Буэна и производить бритвой поперечные срезы.

Для родов крыса должна быть отсажена в отдельную клетку. У мышей гнездо может быть общее.

Наиболее простыми и вместе с тем обобщающими показателями состояния потомства являются смертность и прирост веса в различные периоды развития.

Такие детали, как время прорезывания глаз, отлипания ушей, покрытие шерстью, открытие половой щели и т. д., часто субъективны. Врожденные дефекты скелета, сердца, глаза и т. д., несомненно, показательны, однако они наблюдаются не так часто. Более важны здесь функциональные исследования: электрокардиограмма, скорость выработки условных рефлексов на разных фазах развития и т. д., в зависимости от характера действия изучавшегося вещества.

Таким образом, изучение беременности и состояния плода может быть использовано для интегральной оценки половой функции, т. е. проверки оплодотворяющей способности и соответственно способности к зачатию. Однако даже при сохранении оплодотворяющей способности может наблюдаться снижение плодовитости, что было установлено при воздействии ртути в любых концентрациях, кроме ПДК (И. В. Саноцкий и соавторы, 1967). Еще большее снижение плодовитости наблюдалось при комбинированном воздействии ртути в больших и минимальных концентрациях (на уровне ПДК) и рентгеновского излучения. Снижение плодовитости может быть связано с остановкой развития некоторых оплодотворенных яйцеклеток на ранних стадиях с последующим рассасыванием. Указанный факт свидетельствует о неполноценности сперматозоидов. При сравнении числа эмбрионов с числом желтых тел в яичнике самки может выявляться преобладание последних, что иногда свидетельствует о летальном эффекте наследственной информации в сперматозоиде (летальная мутация).

Изучение мутагенной активности химических веществ

Прямым доказательством генетической опасности химического вещества для человека является наблюдение за развитием потомства людей, которые по роду своей деятельности имели контакт с этим соединением. Однако, учитывая профилактическое направление советской медицины, необходимо уже сейчас проводить испытание профессиональных ядов на мутагенность.

Генетическая активность химических веществ может быть проверена in vivo и in vitro на культуре тканей человека: эмбриональных фибробластах и лейкоцитах периферической крови человека, последние могут быть использованы при обследовании рабочих химических производств. При проведении исследований на культуре тканей представляется возможность непосредственно наблюдать за характером и частотой изменений нормального набора хромосом человека под влиянием испытываемых веществ при различных концентрациях и сроке воздействия (Дж. Пол, 1963). Указанные цитогенетические

методы трудоемки и требуют специальной подготовки (А. А. Прокофьева-Бельговская, 1963; Н. П. Дубинин, Е. П. Ваулин и др., 1966; Ю. Я. Керкис, Н. Г. Столбова, 1966; Levan, 1943, и др.).

Принцип изучения хромосом в культуре лейкоцитов периферической крови человека в общих чертах заключается в следующем: присутствие в среде фитогемагглютинина стимулирует деление кровяных клеток, а введение колхицина останавливает это деление на стадии метафазы, когда хорошо выявляются число и форма хромосом.

Более простым и приемлемым в эксперименте является метод выявления мутагенного эффекта при анафазном и метафазном анализе (статистический подсчет фаз митоза и хромосомных перестроек) препаратов костного мозга, роговицы, эпителия кишечника, срезов активированной печени или (реже) семенников подопытных животных.

Анализ химического мутагенеза на нормальных клетках млекопитающих iv vivo имеет ряд преимуществ по сравнению с методами культивирования тканей in vitro потому, что введение химических ядов в организм вызывает более или менее выраженный феномен стресс-реакции, бесспорно сопровождающейся различными эндокринными сдвигами. Гормоны в свою очередь являются важными регуляторами пролиферативной активности тканей (В. А. Чернов, 1960; О. Е. Епифанов, 1965). Наконец, сам химический агент в процессе метаболизма может быть превращен в живом организме в другое вещество, возможно, обладающее или не обладающее мутагенными свойствами, что, естественно, не может быть учтено при работе на культуре тканей в условиях in vitro (Trams, Vadkarni, 1956).

Для исключения влияния видовой чувствительности на результаты эксперимента подобные исследования целесообразно проводить на нескольких видах лабораторных животных. Метод учета хромосомных перестроек в костном мозге представлен в работах М. А. Арсеньевой, А. В. Головкиной (1966), Д. С. Маркаряна (1966), Ford, Wollam (1963).

В токсикологической лаборатории Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР для проведения анафазного метода учета хромосомных перестроек используют костный мозг бедренной кости (мелких лабораторных животных), которую извлекают тотчас после обезглавливания животного и помещают в фиксатор, состоящий из трех частей 96° этанола и одной части ледяной уксусной кислоты. После 4-часовой фиксации препарат перемещают сначала в 96° этанол (на 30 минут), а затем в 70° этанол на длительное хранение. Анализ ана-телофаз производится в препаратах костного мозга, окрашенных ацетокармином. Учитывают хромосомные и хроматидные мосты, слипания, одиночные и парные фрагменты (рис. 58). На каждый срок исследования должен браться материал не менее чем от 6 животных. С целью получения убедительных данных в материале от каждого животного должно быть просмотрено не менее 300—400 ана-телофаз. Для количественной оценки влияния химических соединений подсчитывается процент хромосомных перестроек и митотический индекс (процент делящихся клеток на 1000 клеток костного мозга); статистическая обработка полученных данных проводится по методу малых выборок для оценки различий по тесту t Стъюдента.

Метафазный метод учета хромосомных перестроек более сложен и поэтому его применение целесообразно только при уточнении пороговых концентраций.

Некоторая ограниченность приведенных цитогенетических методов состоит в том, что с их помощью выявляют только хромосомные аберрации и изменение кариотипа в соматических клетках, но не учитывают возможные генные (точковые) мутации.

Наиболее полное решение вопроса о мутагенной активности химического вещества и нормировании его во внешней среде может быть достигнуто только в прямом эксперименте на млекопитающих. Следует подчеркнуть, что для ведения генетических опытов (мутагенное действие ядов) необходимы большие группы животных, дающие возможность определять достоверность бóльшую, чем 19/20, и прослеживание нескольких поколений животных (не менее трех) при отсутствии инбридинга, т. е. скрещивания родных братьев и сестер.

По данным Bateman (1966), для исследования мутагенных свойств вещества необходимо 30 самцов и 360 самок. Очевидно, что для химических веществ, обладающих слабым мутагенным эффектом (особенно вызывающих рецессивные мутации), для установления пороговых концентраций потребуется еще большее количество животных.

С целью устранения возможного искажения результатов за счет побочных причин подобные исследования должны проводиться на чистых линиях лабораторных животных. Сведения о линейных животных приводятся Н. Н. Медведевым (1966).

Считается, что получить четкие мутации с помощью слабых мутагенов у млекопитающих крайне трудно (А. М. Малашен-

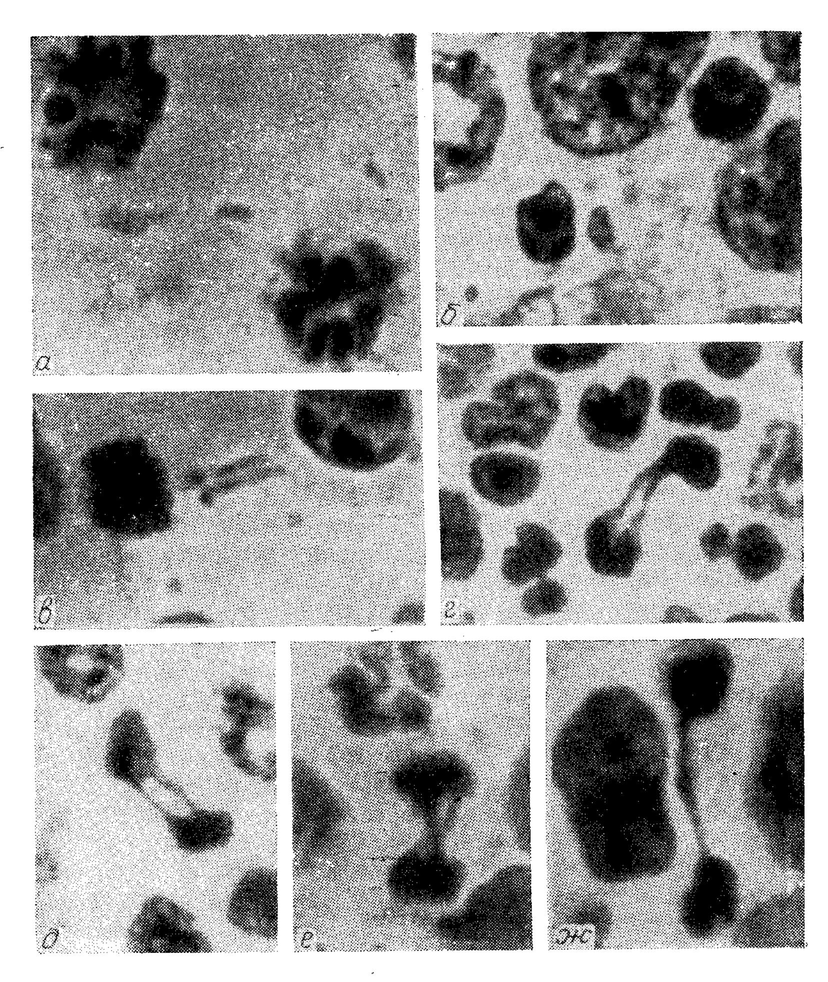


Рис. 58. Различные типы ядерных нарушений в клетках костного мозга мышей при воздействии химического агента (по данным М. А. Арсеньевой и А. В. Головкиной. Институт биологической физики АН СССР). Окраска ацетокармином.

а — ана-телофазы с фрагментами; *б* — то же с крупным фрагментом; *в* — то же с отставанием; *г*, *д*, *е* — хромосомные мосты; *ж* — мост в виде толстого жгута с утолщением посередине.

ко, И. К. Егоров, 1967). Последнее обстоятельство объясняется не устойчивостью генных структур высших млекопитающих к химическим веществам, обладающим слабой мутагенной активностью, а тем, что, кроме видимых изменений внешних признаков, могут иметь место тонкие ферментативные сдвиги в организме и психические расстройства, которые не всегда обнаруживаются в опытах на животных (И. А. Рапопорт 1965). Поэтому для получения более достоверных данных необходимо проведение биохимических и физиологических исследований потомков.

Неблагополучие потомства бывает связано как с самим потомством, так и с дефектами его вскармливания матерями, а также с нарушениями материнского инстинкта. Для дифференцирования причин И. В. Саноцкий (1952) рекомендовал пересадку потомков от подопытных самок к контрольным. Эту пересадку следует осуществлять с осторожностью. Сосунков погружают на время в подстилку, чтобы отбить запах чужих самок — иначе они могут быть съедены. Обычное исследование состояния потомства проводится до 2-месячного возраста, с отъемом от матерей на 28-й день.

Относительно заметные изменения потомства могут быть прослежены на небольших группах животных — по 10 особей в каждой. Эта форма опыта не должна пугать своей трудоемкостью. Последняя не превышает таковой при обычном хроническом эксперименте. Трудность связана лишь с необходимостью сформирования нескольких групп для изучения воздействия нескольких концентраций или доз химического продукта с целью определения минимально действующих количеств. Выбор доз должен происходить в обычном порядке: не менее 2 с разницей в 5—10 раз, весьма желательно определение недействующей дозы (концентрации).

Из литературы известно, что химические вещества, в частности алкилирующей группы, обладающие мутагенной активностью, не только влияют генетически, вызывая летальные и другие наследственные изменения у эмбрионов, но и негенетически, уменьшая количество оплодотворенных яйцеклеток (Ch. Auerbach и др., 1958; Falconer и др., 1952). Под влиянием подобных веществ у самцов во всех случаях развивалась стерильность или полустерильность даже при сохранной сексуальной активности и активности сперматозоидов, а также наблюдалась ранняя эмбриональная смертность (Cattanch, 1947, 1959, 1966; Bateman, 1960, и др.).

Учитывая это обстоятельство, а также большие материальные трудности при проведении широкого генетического экс-

перимента на млекопитающих, важным показателем генетического действия химических соединений может явиться общая плодовитость, количество живых и мертвых эмбрионов при рассмотрении мест имплантации (показатель общей эмбриональной смертности), отношение числа погибших и живых эмбрионов к числу желтых тел беременности (смертность до имплантации).

Общий принцип обнаружения доминантных леталей у млекопитающих сводится к следующей схеме: самцы подвергаются воздействию какого-либо мутагенного фактора (радиация, ультрафиолетовые лучи, химические вещества и т. д.). Самок спаривают с такими самцами. Самок подсаживают к самцам на период 4—5 недель, т. е. наблюдают эффект воздействия мутагена как на зрелые, так и на незрелые половые клетки. Самок забивают на 14—17-е сутки беременности. Эмбриональный материал исследуют по приведенным выше показателям.

Метод, принятый на кафедре генетики и селекции МГУ, состоит в том, что беременную самку мыши забивают через $3^1/_2$ суток после спаривания с самцом, подвергнутым действию какого-либо мутагена. В этом случае у животного наблюдают доимплантационный период. Из рогов матки при помощи шприца, наполненного раствором Рингера, вымывают зиготы (эту операцию можно проводить на более ранних стадиях беременности, вымывая зиготы из яйцеводов), подсчитывают число желтых тел беременности и количество вымытых зигот. Разница между количеством желтых тел беременности и количеством зигот составляет гибель, обусловленную доминантными леталями, проявляющимися до имплантации.

Таким образом, описанные выше методы позволяют дать оценку профессиональным ядам по специфическим показателям и могут быть использованы в токсикологическом эксперименте.

ИССЛЕДОВАНИЕ БЛАСТОМОГЕННОСТИ НОВЫХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Экспериментальное исследование бластомогенных свойств каждого нового продукта невозможно ввиду трудоемкости соответствующих методов и длительности необходимых наблюдений. Изучение бластомогенного влияния должно проводиться лишь для «подозрительных» в указанном отношении веществ. Необходимость изучения канцерогенных свойств про-

дукта может диктоваться сходством с уже известными классами канцерогенов. Канцерогенную опасность могут представлять следующие классы веществ.

а) Полициклические ароматические углеводороды и различные продукты, их содержащие (сажи, пеки, продукты сжигания и пиролиза органического сырья, каменноугольные и сланцевые смолы, некоторые нефтепродукты, кубовые остатки органического синтеза, синтетические полициклические ароматические углеводороды и др.). Прежде чем приступать к экспериментальному исследованию на животных того или иного технического продукта указанного класса, целесообразно провести анализ на содержание в нем 3, 4-бензпирена. Желательно также определить содержание дибензпиренов и дибензантраценов, особенно 1, 2, 5, 6-дибензантрацена. Для анализа на содержание 3, 4-бензпирена следует пользоваться спектральными методами, например методом, описанным П. П. Дикуном (1955).

б) Ароматические амины (β-нафтиламин, бензидин, ряд аминопроизводных стильбена и других производных) (Г. Б. Плисс, 1965).

в) Азо- и нитросоединения (особенно 4-метиламиноазобензол и большинство его замещенных, нитрозодиалкиламины), а также красители сложной структуры с гетероциклами, амино- и диазогруппами. Доказана опасность для человека арилметановых красителей как канцерогенов мочевого пузыря (Г. М. Беджер, 1969; Н. В. Лазарев, 1963).

г) Прочие канцерогенные продукты (бериллий, никель, хром и др.), особенно при попадании в дыхательные пути и легкие; алкилирующие агенты — этиленимин и его производные эпоксиды; β-пропиллактон и др. Все мутагены потенциально опасны в бластомогенном отношении.

В любом случае, прежде чем приступать к дорогостоящему и длительному эксперименту по выявлению бластомогенной активности, исследователь должен внимательно изучить литературу по интересующему продукту. Сводные данные по канцерогенным продуктам приведены Н. В. Лазаревым, Hartwell (1956), Shubik, Hartwell (1957), Neabauer (1959), Eckardt (1959), Г. М. Беджером (1966).

Другим обстоятельством, которое может обусловить необходимость экспериментального исследования канцерогенности продукта, являются профпатологические наблюдения. Если определенные опухоли чаще встречаются у лиц, контактирующих с данным веществом, то это указывает на необходимость экспериментального изучения его канцерогенности. Однако

профпатологические и статистические данные должны приниматься во внимание при их достаточной значимости или как минимум при выраженной тенденции к учащению заболеваемости раком.

При решении вопроса об исследовании канцерогенных свойств продукта следует учитывать, что токсичность в остром и хроническом эксперименте прямо не связана с канцерогенной активностью соединения. Примером тому может служить 3, 4-бензпирен, обладающий весьма малой общей ядовитостью.

При получении продукта, подлежащего исследованию на канцерогенность, должен быть документирован его состав, возможные примеси, изомеры, физико-химические константы. В случае работы со сложными смесями, где невозможна идентификация всех компонентов, следует максимально унифицировать все условия получения продукта на производстве. При работе с продуктами термического распада органических веществ и смолистыми кубовыми остатками очень важно в каждой исследуемой партии продукта определить содержание 3, 4-бензпирена. Опыт экспериментальной онкологии показывает, что вследствие недостаточной чистоты и примесей испытуемых продуктов были ошибки и заблуждения при установлении их канцерогенности. Например, считают, что противоречия при установлении бластомогенности α-нафтиламина объясняются примесью β-нафталамина.

Выбор подопытных животных. Исследование канцерогенного свойства веществ может производиться на различных животных. Чаще всего используются мыши и крысы. Продолжительность их жизни и срок воздействия испытуемого продукта позволяют получить надежные данные за сравнительно короткое время. Это связано с тем, что появление опухолей более вероятно во второй половине жизни животных в условиях длительного воздействия канцерогенного фактора. Относительно невысокая стоимость крыс и мышей, а также их содержания позволяет увеличивать число животных в эксперименте и контроле для достижения статистически достоверных результатов. В настоящее время используется также золотистый хомяк, который в ряде отношений отличается от мышей и крыс.

Опыты могут проводиться как на линейных, так и на беспородных животных. Однако более недежны и воспроизводимы данные, полученные на линейных мышах и крысах. Особенно могут быть рекомендованы низкораковые линии мышей C_{57} — черные и CC_{57} — коричневые. Используются также мыши линии A и линии C_3H, у которых, однако, достаточно часто встречаются спонтанные опухоли молочных желез, в связи с чем более желательны низкораковые линии. Крысы часто используются беспородные; из инбредных крыс может быть взята линия Вистар и др. При постановке опыта на беспородных животных с неизвестной онкологической характеристикой, так же как и на линейных животных, обязательной является контрольная группа, равная по численности и половому составу подопытной группе.

Число мышей в каждой группе, по нашему мнению, должно составлять 50. Если имеется в виду по ходу опыта более подробная патоморфологическая или биохимическая характеристика, требующая дополнительно животных, то количество мышей в подопытной группе следует увеличить до 70. Каждое вещество следует испытывать не менее чем на двух линиях мышей. Возможно проведение опыта на двух группах: одной — беспородной, а другой — низкораковой линии мышей. Если отсутствуют линейные животные, то для ориентировочной оценки канцерогенности допустима постановка опыта на двух видах беспородных животных — мышах и крысах с обязательными контрольными группами. Число крыс в группе должно быть 30 или более.

Е. Бойланд (1957) рекомендует постановку каждого опыта на животных трех чистых линий и для наиболее ответственных опытов дополнительно на гибридах чистых линий мышей. Одновременно он считает возможным брать число животных в группу с таким расчетом, чтобы до «опухолевого возраста» доживало 20.

Постановка опыта. Применяются три основных пути введения изучаемых продуктов: 1) нанесение вещества на кожу — накожная аппликация; 2) подкожное или внутрибрюшинное введение; 3) энтеральное введение, которое осуществляется путем скармливания с пищей, введения с питьевой водой и введение в желудок через зонд (Г. М. Беджер, 1966).

В лаборатории Л. М. Шабада проводятся перспективные исследования органных культур эмбрионов, матери которых подвергались воздействию бластомогенных веществ. Эти исследования позволяют прогнозировать бластомогенную опасность химических соединений.

Для специальных целей могут быть использованы и другие пути: интратрахеальное введение посредством интубации или ингаляции продукта, имплантация в различные органы и ткани, имплантация полимерных материалов в виде порошков и пленок, введение в серозные полости (Е. Бойланд, 1957). При выборе метода введения следует учитывать возможный

путь проникновения данного продукта в организм человека, как это делается при обычных токсикологических исследованиях. Если вещество попадает в легкие, то желательно в одной из подопытных групп применить интратрахеальное введение; при попадании в организм человека с пищей или водой обязательным является энтеральное введение. При изучении нового химического продукта во всех случаях следует исследовать канцерогенность при накожной аппликации на мышах.

Для постановки опыта должны быть использованы молодые животные: мыши весом 15—17 г, крысы по 150—200 г, кролики весом 1000 г. Опыт можно проводить на самцах и самках, но содержать их лучше раздельно. Необходима тщательная документация опыта. Каждое животное должно иметь индивидуальную карточку, где регистрируют линию, пол, вес, возраст, особенности видовой характеристики, начало опыта, основные клинические проявления, динамику веса. Все животные должны быть пронумерованы. Каждые 2 недели надо проводить поголовный осмотр животных с их взвешиванием, особенно в первые месяцы, когда чаще обнаруживаются явления интоксикации.

Доза продукта при исследовании его канцерогенности играет определенную роль (Е. Бойланд, 1957; Cramer, Stowell, 1943). При исследовании новых веществ следует применять максимально переносимые дозы. Объем вводимых растворов должен быть небольшим и не превышать 10 мл/кг для мышей и крыс. Общий срок наблюдения обычно приравнивают к 30% длительности жизни.

При каждом пути введения продуктов имеются свои особенности в постановке опытов, которые излагаются ниже.

Накожная аппликация. Указанный путь является основным для оценки канцерогенной активности в условиях токсикологической лаборатории. Опыты проводятся на мышах и реже на кроликах. Наиболее приемлемым является использование низкораковых линий мышей C_{57} — черные и CC_{57} — коричневые. Аппликации осуществляются в межлопаточной области мышей. Для нанесения продукта используется стеклянная палочка или кисточка. Жидкости можно также наносить стеклянной пипеткой каждый раз по одной капле. Для аппликации более вязких продуктов можно осторожно подстригать участок шерсти размером приблизительно 15 × 15 мм, не травмируя при этом эпидермиса.

Для исследования густых или твердых продуктов приходится использовать их бензольные или ацетоновые растворы,

удобные для аппликаций. К вязким продуктам бывает достаточно добавить 10% ацетона или бензола, чтобы получить приемлемую консистенцию. По данным П. А. Боговского (1960), практически одинаковые результаты получались при использовании 10, 15 и 20% бензольных растворов сланцевой смолы; 5% ее разведение вызывало более медленное развитие опухолей. Достаточно активные канцерогены выявляются при смазывании 0,3% бензольным раствором (Г. М. Беджер, 1966). При сильном местном действии также следует разводить продукт 1 : 1 или 1 : 2 бензолом или ацетоном. Местное действие можно уменьшить или даже устранить путем разделения сложного продукта на фракции, отделив легкие, которые обладают раздражающим действием и обычно лишены канцерогенных свойств.

Сами аппликации осуществляются 2 или 3 раза в неделю. Чаще применяется двукратная аппликация; более летучие и менее токсичные вещества целесообразно наносить трижды в неделю. В случае развития явного хронического отравления аппликации следует сократить до 1 раза в неделю.

Общая продолжительность аппликаций может быть различной в зависимости от получаемых результатов (Е. Бойланд, 1957). В случае достаточно высокой бластомогенной активности сроки эксперимента сокращаются и на мышах могут быть получены достоверные данные через 6 месяцев при смазывании дважды в неделю и общем числе аппликаций 50. При выявлении слабых канцерогенов и невысокой общей токсичности продолжительность аппликаций должна быть более длительной для получения достоверных данных. Мы в таком случае применяли аппликации на линейных и беспородных мышах в течение 15 месяцев. По ходу опыта ослабевших животных с явными опухолями следует забивать для вскрытия и проведения гистологического исследования опухоли, эпидермиса и дермы в области аппликации. У части животных целесообразно провести гистологическое исследование печени, почек, селезенки, мышцы сердца; ценные данные в ряде случаев могут быть получены при микроскопии головного и спинного мозга, щитовидной железы, надпочечника.

В указанных органах при гистологическом исследовании выявляются дистрофические изменения, отражающие общую выраженность интоксикации в динамике по ходу опыта. При вскрытии следует тщательно искать метастазы как регионарные, так и в отдаленных органах. Желательно гистологическое исследование регионарных лимфатических узлов, где необходимо дифференцировать банальный лимфаденит от опухоле-

вых метастазов. Современные гистохимические методы позволяют выявить начальные изменения в тканях в процессе экспериментального канцерогенеза (Burstone, 1962). Значительные патогистологические изменения в органах большинства подопытных животных при отсутствии опухолей свидетельствуют о выраженности хронической интоксикации продуктом.

Наглядная оценка полученных результатов достигается построением графика отношения количества «опухолевых» мышей к «неопухолевым» в процентах в разные сроки опыта. Для построения такого графика можно воспользоваться формулой Г. Рейссига:

$$\text{Относительное количество «опухолевых» животных на данное время опыта (в \%)} = \frac{\text{Число живых и погибших животных с опухолями к данному сроку опыта}}{\text{Исходное число животных за вычетом погибших животных к данному сроку опыта, у которых не было опухолей}} \times 100.$$

Для характеристики канцерогенной активности продукта важное значение имеет продолжительность латентного периода, который может быть выражен как минимальный, средний и наибольший. По ходу опыта обычно сначала происходит развитие папиллом, которые затем переходят в рак. При сильных канцерогенах папилломы появляются через 1—1 $^1/_2$ месяца, в то время как при воздействии слабых — спустя 3—4 месяца. В пределах одной серии опыта процесс появления папиллом растягивается при сильных канцерогенах на срок от 1 до 3 месяцев, при слабых — от 3 до 14 месяцев. Переход папилломы в рак происходит в различные сроки и при воздействии сильных канцерогенов значительно быстрее, чем при слабых. Количественная оценка бластомогенного действия при кожной аппликации в отношении времени, дозы и площади воздействия канцерогена рассмотрена Крамером и Стовелом. В практической работе не всегда легко отличить папиллому от раковой опухоли, уловить переход в рак. При наличии известного опыта это достигается путем пальпации краев и основания опухоли. При возникновении инфильтративного злокачественного роста опухоль обычно становится более твердой, менее подвижной, приобретая как бы хрящеподобную консистенцию. Сопутствующие воспалительные изменения и расчесы могут в ряде случаев маскировать процесс.

Поэтому окончательнсе заключение может быть получено только после гистологического исследования опухоли. При возникновении опухолевого роста граница между эпителием и подлежащей соединительной тканью стирается, эпителий врастает в соединительную ткань тяжами, островками, группами клеток; сами эпителиальные клетки приобретают атипизм. Основные признаки малигнизации хорошо выявляются при обычной окраске препаратов гематоксилин-эозином. В большинстве случаев злокачественные опухоли мышей в области аппликации могут быть отнесены к трем основным группам: плоскоклеточный ороговевающий рак, плоскоклеточный неороговевающий рак и рак смешанного типа. Возможно метастазирование в регионарные лимфатические узлы, легкие и печень.

Для отличия злокачественного процесса от доброкачественного — воспалительной, пролиферативной реакции, мы применяли прекращение смазываний на интересующем нас периоде. При возникновении злокачественного новообразования процесс прогрессировал и мыши неизбежно погибали, что соответствует самому понятию злокачественной опухоли. При доброкачественном характере процесса изъязвление постепенно эпителизировалось, корки отпадали. Однако при этом должен быть достаточно длительный период наблюдения в связи с возможностью появления более поздних злокачественных опухолей.

Результаты опыта должны быть обработаны статистически, чтобы получить достоверные данные. Сама статистическая обработка может быть проведена различными способами (В. Ю. Урбах, 1964). При наличии контрольной группы удобен точный критерий Фишера. Е. Бойланд (1957) приводит таблицы, позволяющие определить статистическую достоверность бластомогенного действия непосредственно по результатам эксперимента, не прибегая к вычислениям. При работе на линейных мышах с большими группами животных и слабым канцерогенным эффектом вещества может быть использовано распределение Пуассона (Я. Б. Шор, 1962).

Для оценки результатов опыта могут быть также применены некоторые показатели, как, например, выраженное в процентах отношение числа животных со злокачественными опухолями к числу животных на время появления первой опухоли. Иногда пользуются индексом Айбела, представляющим собой отношение части животных со злокачественными опухолями (в процентах) к среднему латентному периоду их возникновения. Однако эти и другие показатели и индексы

для оценки канцерогенной опасности вещества имеют лишь вспомогательное значение.

Подкожное, внутрибрюшинное и интратрахеальное введение. В условиях токсикологической лаборатории указанные пути введения для оценки бластомогенной активности менее применимы ввиду большей трудоемкости исследований, возможности занесения инфекции при парентеральных введениях, значительной общей интоксикации при инъекциях продуктов, что затрудняет постановку и подведение итогов опыта.

В качестве подопытных животных применяются в первую очередь крысы как линейные, так и беспородные. При использовании мышей желательны низкораковые чистые линии. Частота введений и дозы продуктов индивидуальны, зависят от токсичности. Малотоксичные вещества могут вводиться 1 раз в неделю, более ядовитые вещества 1 раз в 2 или 3 недели. Желательно применение чистых веществ, водных растворов или водных суспензий. Возможно также введение подогретых растворов в сале и масляных растворов. В качестве растворителя некоторые рекомендуют кунжутное масло. Суспензии, масляные растворы и водонерастворимые вещества в чистом виде позволяют ожидать в большей мере образование опухолей на месте инъекции. При парентеральных введениях желательна постановка контрольного опыта на бластомогенное действие применяемого растворителя. Полициклические углеводороды на месте подкожных инъекций вызывают обычно развитие сарком, что надо иметь в виду при планировании опыта. При введении других канцерогенных веществ опухоли могут появляться в отдаленных органах — печени, легких, молочной железе.

Для решения специальных вопросов может быть использовано интратрахеальное введение изучаемого продукта. Опыты проводятся на беспородных и линейных крысах. Приготовляются взвеси или масляные растворы изучаемого вещества, объем одного введения не должен превышать 0,2 мл. Общее число введений может быть различным, что зависит от токсичности и канцерогенной активности. Ориентировочно может быть рекомендовано от 1 до 3 введений в месяц и их общее число — не более 10. Крысы должны пожизненно находиться под наблюдением, хотя допустимо ограничиться 15-месячным сроком, если не возникает сомнений в итогах опыта. Технически интратрахеальное введение осуществляется под легким эфирным наркозом с помощью иглы, конец которой затуплен наплавленным оловом. В пасть крысы вставляют ушное зеркало, гортань освещают от лобного рефлектора и под

контролем зрения проводят интубацию, которая требует известного навыка. Проведение данной операции аналогично интубационному введению взвесей, принятому в токсикологическом эксперименте для изучения фиброгенных свойств пылей.

Оценка полученных результатов проводится в основном так же, как и при накожных аппликациях.

Энтеральное введение веществ. Наиболее обосновано применение указанного пути в тех случаях, когда возможно попадание исследуемого продукта в желудочно-кишечный тракт: присутствие в воде водоемов, применение в качестве пищевых добавок и красителей, а также пылевом загрязнении воздуха, когда происходит заглатывание частиц пыли со слизью из дыхательных путей. Применение энтерального пути введения рекомендуется, например, при исследовании аминоазосоединений (Г. М. Беджер, 1966).

Подбор подопытных животных и оценка полученных результатов осуществляются примерно так же, как и при описанных выше способах.

Для внутреннего введения приготовляются масляные или водные растворы. В качестве масляных растворителей используются подсолнечное или другие пищевые масла, из которых, однако, следует избегать арахисового масла (Е. Бойланд, 1957). Когда вещество не растворяется, приготовляются суспензии на крахмальном клейстере или молоке. Наиболее удобен метод скармливания с пищей или дачи с питьевой водой. При скармливании раствор вещества смешивают с кормом из расчета 1 мл на одну крысу или 0,2 мл раствора на одну мышь и помещают в клетку для поедания всеми находящимися там животными. Для постоянной и точной дозировки исследуемого вещества в пищевом рационе можно пользоваться материалами ФАО/ВОЗ по оценке канцерогенной опасности веществ, добавляемых к пищевым продуктам (Г. Б. Плисс, 1965).

При достаточной растворимости вещества в воде его можно вводить животным с питьевой водой из обычных автоматических поилок. Концентрацию раствора подбирают исходя из необходимой дозы и суточного потребления воды, которое для мышей составляет около 2 мл и для крыс около 10 мл в сутки.

Если вещество придает воде и пище запах или привкус, вследствие которого животные отказываются от корма и воды, то приходится прибегать к введению через зонд. Введения через зонд следует проводить осторожно во избежание травмирования пищевода и зева. Зондирования проводятся через

день или дважды в неделю. Объем однократно вводимого раствора или суспензии составляет для крыс 1 мл, для мышей 0,5 мл.

При энтеральном введении аминоазосоединений опухоли возникают преимущественно в печени, другие классы канцерогенов могут приводить к возникновению опухолей других локализаций.

В связи с экстренными требованиями промышленности актуален вопрос создания ускоренных методов исследования канцерогенных свойств химических веществ. В настоящее время предложен ряд таких методов, обзор которых дан А. Б. Линником, Л. М. Шабадом и Л. А. Андриановым. Однако специальная проверка не позволила считать достаточно надежным ни один из ускоренных методов, существующих в настоящее время (Л. М. Шабад, Л. А. Андрианов, 1966). В связи с этим применение ускоренных методов выявления бластомогенных свойств не может быть пока широко рекомендовано для токсикологических лабораторий.

Гигиеническая трактовка результатов эксперимента. Правильная оценка результатов опыта должна лечь в основу профилактики раковых заболеваний. Появление значительного числа злокачественных опухолей, особенно при наличии короткого латентного периода, указывает на высокую канцерогенность продукта. С другой стороны, появление в подопытных группах небольшого числа опухолей, которое незначительно превосходит контроль или онкологическую характеристику линий, большие латентные периоды, преобладание среди индуцированных опухолей доброкачественных — указывает на слабую канцерогенную активность продукта. Отрицательный результат может быть признан достоверным, если он получен на двух или более линиях животных с соответствующими контролями и гистологическими исследованиями.

Следует иметь в виду, что количественная оценка канцерогенного действия требует опыта и, приступая впервые к этой работе, необходимо проконсультироваться с соответствующими специалистами.

В настоящее время установлен суммационный характер канцерогенного действия. При воздействии малых доз происходит суммирование их эффектов и канцерогенный эффект суммарной дозы приблизительно равен сумме эффектов всех малых доз (П. П. Дикун, 1966). Другими словами, канцерогенное действие незначительных доз и концентраций химических веществ не проходит бесследно, оно накапливается. Эта установленная закономерность канцерогенеза должна лечь в основу профилактики рака химической этиологии.

Сильные канцерогены необходимо устранять из сферы производства и быта. Это достигается заменой сильных канцерогенов на неканцерогенные продукты и запрещение их дальнейшего производства. Примером тому может служить успешная замена в промышленности β-нафтиламина другим веществом. Мы считаем, что для канцерогенов следует устанавливать предельно допустимые концентрации в воздухе производственных помещений, воде водоемов, атмосферном воздухе (это относится в первую очередь к 3, 4-бензпирену). Отсутствие ПДК (пусть временных и несовершенных) затрудняет организацию удовлетворительного контроля за внешней средой, так как методы обнаружения указанных веществ могут оказаться недостаточно чувствительными.

В отношении слабых канцерогенов должен быть принят ряд профилактических мероприятий для уменьшения контакта человека с ними.

1. Сделать более строгими все гигиенические требования (в том числе ПДК) при работе с такими продуктами в условиях производства.

2. Полностью устранить попадание указанных веществ во внешнюю среду: атмосферный воздух, водоемы, почву, пищевые продукты и т. п.

При выявлении канцерогенных свойств сложных продуктов (кубовые остатки, смолы, тяжелые нефтепродукты и др.) следует попытаться их фракционировать для выявления канцерогенно активной фракции. В ряде случаев изменение технологических процессов позволяет достичь получения гигиенически безопасных и экономически выгодных решений.

ИЗУЧЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В практике установления ПДК новых веществ в воздухе рабочих помещений испытывают аллергенные свойства в эксперименте на животных, исходя из физико-химических свойств и структуры молекулы вещества (Е. А. Иевлева, 1962; Э. Н. Левина, 1959; Л. П. Цыркунов, 1962; 1966; Н. И. Шумская, 1961; Borek и соавторы, 1965; Malten, 1965; Blohm, 1965, и др.). За рубежом изучение возможности сенсибилизации кожи к химическим веществам часто проводят на людях-добровольцах (Lea и др., 1958; Hine и др., 1958; Gauef, 1957; Milby, Epstein, 1964).

Следует признать справедливым, что результаты, полученные на лабораторных животных, являются сугубо предварительными и требуют проверки на людях, так как реактивность кожи человека значительно отличается от реактивности кожи животных.

При углубленном изучении клиники и патогенеза профессионального заболевания предположительно аллергенной природы рекомендуется проводить экспериментальные исследования более подробно, т. е. в соответствии со всеми положениями классической иммунологии (Waksman, 1962).

Одним из наиболее важных моментов при изучении сенсибилизирующих свойств химического вещества является правильный подбор лабораторных животных. Большинство экспериментаторов склоняются к тому, что для изучения аллергенного действия веществ наиболее подходящим животным является морская свинка светлой масти (М. Я. Гершанович, 1954; Е. А. Иевлева, 1962; Б. Г. Стоянов, 1963; С. Т. Павлов, 1955; Г. И. Лобановский, 1964; М. Г. Алешин, 1964; Turk, 1965). Такое мнение обусловлено главным образом легкой воспроизводимостью на этих животных всех видов аллергии: быстрого типа с гуморальными антителами, гиперчувствительности замедленного типа и даже феномена Артюса.

Ряд авторов признает правильным постановку опытов не только на морских свинках, но и на кроликах (Э. Н. Левина, 1959; Л. П. Цыркунов, 1962; П. Н. Крапивинцев и др., 1936; Н. И. Шумская, 1962; Д. Д. Шапиро, 1958).

Обращает внимание почти полное отсутствие сведений об использовании в опытах по изучению аллергенных свойств химических веществ белых крыс—наиболее распространенного в токсикологической практике вида лабораторного животного. Лишь в работе П. Н. Крапивинцева (1936) упоминается об успешном воспроизведении сенсибилизации динитрохлорбензолом у белых крыс. Такое положение связано с распространенным мнением о непригодности этого вида животных для аллергологических исследований (Л. А. Зильбер, 1958). Однако некоторые авторы получали анафилактический шок у крыс к белковым аллергенам (Hochwald, Rackemann, 1946, и др.), а феномен гиперчувствительности замедленного типа описан у этих животных неоднократно (Rowley и др., 1959; Gray и др., 1961; Flax, Waksman, 1962, и др.). В свете указанных данных представляется целесообразным в дальнейшем накапливать экспериментальные материалы о возможности применения белых крыс при изучении сенсибилизирующих свойств промышленных химических веществ.

Переходя непосредственно к постановке экспериментов по изучению аллергенных свойств химического вещества, важно вначале выявить наличие первичного раздражающего действия не менее чем на 6—10 морских свинках и 3—5 кроликах одновременно, исходя из различий видовой чувствительности. Для этого 0,2—1 г испытуемого продукта как в нативном состоянии, так и в различных разведениях следует однократно нанести на участок кожи животного размером 1 × 1 см у морских свинок и 2 × 2 см у кролика. Вещество равномерно наносят на кожу и слегка втирают стеклянной лопаточкой. Животное остается в течение 2—6 часов фиксированным на станке или в индивидуальной клетке, препятствующей слизыванию и стиранию продукта. Затем вещество удаляют марлевым тампоном, в случае необходимости смоченным растворителем, а также теплой водой с мылом. Участки кожи у контрольных животных, которым наносили разбавитель или мазевую основу, обрабатывают тем же способом, что и у подопытных.

В качестве растворителя или разбавителя рекомендуется использовать по возможности инертные вещества (вода, растительное масло); в ряде случаев для трудно растворимых соединений — спирт с ацетоном, этанол, этилцеллозольв и др. Порошкообразные химические вещества можно испытывать или в нативном виде с применением повязок, или в виде паст и мазей, приготовленных на вазелине или ланолине. В качестве разбавителя лучше использовать те вещества, с которыми испытуемый продукт применяется в быту, промышленности и сельском хозяйстве. Наблюдение за подопытным участком кожи должно проводиться в течение первых 3 суток. Отсутствие видимой реакции кожи на неразведенный продукт позволяет в дальнейшем использовать его в том же виде при изучении аллергического эффекта. При наличии первичного раздражающего действия вещества в дальнейших опытах по сенсибилизации следует остановиться на том разведении, которое не оказало какого-либо раздражающего влияния.

В промышленной токсикологии наиболее распространенным методом является накожная аппликация продукта в связи с тем, что физико-химические свойства значительного числа химических веществ не позволяют ввести их другим способом (часто это липкие, вязкие, нерастворимые в большинстве растворителей вещества). Положительным моментом при использовании накожных аппликаций является естественный путь воздействия вещества на организм, если учитывать условия быта и производства. Отрицательными сторонами этого ме-

тода по сравнению с внутрикожным можно считать бо́льшую продолжительность периода сенсибилизации и необходимость относительно длительной фиксации животного.

Срок сенсибилизации зависит от степени аллергенных свойств химического вещества и способа сенсибилизации (накожно или внутрикожно). При внутрикожном введении аллергена, особенно в смеси со стимулятором (Freund), обычно достаточно однократной, максимально четырехкратных инъекций продукта, чтобы вызвать развитие сенсибилизации в организме (например, соединениями бериллия, неосальварсаном, пропионовым ангидридом, динитрохлорбензолом). При накожной сенсибилизации однократный контакт кожи с веществом может привести к развитию сенсибилизации в крайне редких случаях, когда вещество относится к чрезвычайно сильным аллергенам. Поэтому рекомендуется наносить испытуемый продукт на один и тот же участок кожи спины животного повторно 4—30 раз в зависимости от предварительных сведений об изучаемом соединении, свидетельствующих о наличии его аллергенных свойств (наблюдения над работающими, структура молекулы вещества, принадлежность его к тому или иному гомологическому ряду и др.). Кроме того, нельзя не учитывать возможность развития контактного дерматоза у подопытных животных при повторных контактах химического агента с кожей. При этом поражение кожи у животных, как правило, характеризуется появлением отчетливой гиперемии, отека, поверхностных трещин, кровоизлияний в кожу, обильным шелушением. В этих случаях дальнейшее нанесение вещества должно быть прекращено.

Выявление сенсибилизации следует проводить не ранее чем через 10—14 дней после первого контакта кожи с предполагаемым аллергеном. В тех случаях, когда вещество не оказывает местного эффекта и воздействие его продолжается в течение 20—30 дней, опыты с нанесением разрешающей дозы вещества могут быть поставлены сразу по окончании повторных аппликаций. Необходимо подчеркнуть, что ставить тесты на сенсибилизацию в период выраженного дерматоза нельзя, применять их рекомендуется лишь после окончательного выздоровления животного.

Кожные аллергические тесты можно ставить либо тем же способом, каким осуществлялась предварительная сенсибилизация, либо хорошо известным компрессным методом (сборник «Современная практическая аллергология». М., 1963).

Сенсибилизирующую дозу и ее разведения (титры разведения 1 : 2, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 50, 1 : 100 и, реже, 1 : 250 — 1 : 500) наносят на противоположный бок сенсибилизированных и контрольных животных. Контрольными должны быть интактные животные и животные, имеющие повторный контакт с разбавителем или растворителем испытуемого аллергена. Животные обеих контрольных групп должны содержаться (фиксироваться) в тех же условиях, что и подопытные. Учитывая сегментарную реактивность кожи, рекомендуется различные титры наносить последовательно, начиная с максимально испытанной концентрации, на участки кожи в направлении от хвоста к голове. Методические приемы при воспроизведении и выявлении сенсибилизации (площадь подопытного участка кожи, количество испытуемого вещества) не отличаются от таковых при изучении первичного раздражающего действия. Наблюдения за участками кожи, на которые наносили титры вещества, следует проводить спустя 30 минут (появление реакции быстрого типа), затем через 24—48—72 часа (появление гиперчувствительности замедленного типа).

В случаях развития сенсибилизации на коже появляется покраснение, отек, мелкочешуйчатое шелушение. Степень или титр сенсибилизации характеризуется максимальным разведением, вызвавшим клиническую картину кожного поражения. Сильные аллергены могут вызвать так называемую реакцию воспламенения, т. е. наличие воспаления на участке кожи, обработанном испытуемым веществом в период сенсибилизации. Имеются наблюдения, когда реакция воспламенения возникает на интактном, симметричном участке кожи спины животного. Оценку реакции кожи лучше проводить в баллах, что позволяет обработать полученные данные статистическим методом.

Вычисление баллов производится различными способами, основанными на учете наличия, интенсивности и площади распространения отдельных признаков воспаления — гиперемии, инфильтрата, некроза (О. Г. Алексеева, 1965; Н. И. Шумская, 1962, и др.). Выбор способа вычисления балла зависит от характера реакции на данное вещество. Так, при наличии только гиперемии балл может исчисляться диаметром ее в миллиметрах. Если возникает еще и инфильтрат различной выраженности, то возможно пользоваться суммой диаметров гиперемии и инфильтрата, а интенсивность последнего учитывать, вводя коэффициент, определяемый или условно (например, слабый — 1, выраженный — 2) или микрометром по толщине складки кожи. При наличии некроза, характеризующего гиперергическую реакцию, можно прибавлять размер его диаметра или вводить поправочный коэффициент

(например, 3). Если же некроз является следствием первичного раздражающего действия, порог которого ниже аллергенного, то им можно пренебречь при вычислении балла (О. Г. Алексеева, 1965).

Показателем силы аллергенного воздействия являются величина сенсибилизирующей дозы, скорость, частота развития поражения и величина титра сенсибилизации. Развитие аллергии у большинства подопытных животных после небольшого числа аппликаций (не более 10), которая выявляется при помощи кожных тестов с разведениями вещества не менее чем 1 : 100, характерно для сильных аллергенов.

Развитие сенсибилизации к химическим веществам характеризуется, кроме кожных изменений, общей реакцией организма. Последняя сопровождается эозинофилией, сдвигом белковой формулы в сторону увеличения глобулинов, повышением гистамина и 17-кетостероидов в крови и т. д. Описано увеличение числа базофилов в периферической крови, например, у морских свинок, сенсибилизированных пропионовым ангидридом (Hunziker, Jadassohn, 1965).

При более углубленном исследовании сенсибилизации в период нанесения разрешающей дозы химического агента возможно также проводить оценку наступившей реакции по тромбопеническому показателю (С. Стоянов, 1961), путем постановки прямого и непрямого тестов дегрануляции базофилов (Juhlin, 1965), по показателю повреждения нейтрофилов (В. А. Фрадкин, 1963) и в некоторых случаях по титру специфических антител, наиболее легко выявляемых методом пассивной гемагглютинации (Boyden, 1951), биологическими (Chase, 1947; Ovary, 1951), а также нефелометрическим методом (Hoigné, 1955).

Несмотря на то что накожный способ воспроизведения сенсибилизации является ведущим в промышленной токсикологии, следует иметь в виду возможность выявления аллергенных свойств химических веществ при ингаляционном воздействии их в эксперименте (М. В. Крыжановская и др., 1966). В процессе повторных ингаляций (1—3 месяца) нового химического агента у животных может наступить развитие сенсибилизации, которая выявляется последующей постановкой накожных тестов.

Резюмируя изложенное выше, можно предложить следующую схему проведения экспериментов по изучению сенсибилизирующих свойств профессиональных ядов.

1. Опыты следует проводить на 2—3 видах лабораторных животных молодого возраста (морские свинки, кролики, крысы), не употреблявшихся ранее в опытах во избежание паралергических реакций.

2. Первым этапом исследований является оценка первичного раздражающего действия продукта при однократных накожных аппликациях его в нативном виде и в различных разведениях.

3. В качестве основного способа сенсибилизации рекомендуются повторные (4—30 раз) на один и тот же участок кожи спины животного накожные аппликации изучаемого вещества в той концентрации, которая не вызывает реакции кожи при однократном воздействии. Развитие выраженного контактного дерматоза в процессе повторных нанесений химического агента служит показанием к прекращению дальнейших аппликаций.

4. Постановку кожных тестов для выявления аллергии следует проводить на участки кожи противоположной стороны тела не ранее чем через 10—14 дней от начала сенсибилизации. Степень аллергизирующих свойств испытуемого вещества оценивается в баллах по реакции кожи на сенсибилизирующую дозу и различные ее разведения (титры сенсибилизации).

5. Целесообразно рекомендовать постановку кожных аллергических тестов у животных, подвергавшихся ингаляционному воздействию предполагаемого аллергена с целью получения материалов для обоснования величины ПДК.

Предлагаемая схема ни в коей мере не ограничивает инициативы исследователя при более углубленном изучении сенсибилизирующих свойств химических веществ.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОРОГОВ ДЕЙСТВИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Для исследования реактивности организма, подвергающегося воздействию различных промышленных ядов в низких концентрациях, наибольшей популярностью пользуются различные модификации фагоцитарной реакции нейтрофилов крови. Довольно часто применяют и определение титра иммунных антител. В литературе можно встретить также экспериментальные исследования, в которых изучались тесты на реактивность: количество комплемента, пропердина, интенсивность бактерицидных свойств сыворотки крови; титры лизоцима в слюне и тканях, барьерные функции крови и сли-

зистых оболочек дыхательных путей, состояние аутофлоры и т. д. (О. Г. Алексеева, 1964). Гигиенисты нередко при обследовании рабочих различных промышленных предприятий определяли общую иммунологическую реактивность по В. И. Иоффе.

При воздействии различных химических веществ в зависимости от особенностей патогенеза интоксикации, на ранних этапах и особенно при легких степенях поражения наступают изменения не всех, а только тех иммунологических тестов, поражение механизмов которых специфично для данной интоксикации. Характерным примером может служить изменение фагоцитарного теста при действии химического вещества, поражающего гранулоцитарный росток кроветворной ткани, например, бензола. Так, А. П. Волкова (1959) при хроническом ингаляционном отравлении кроликов бензолом в концентрации от 0,02 до 0,5 мг/л показала, что фагоцитарная функция нейтрофилов крови изменяется на несколько недель раньше, чем происходят первые количественные нарушения в периферической крови. Изменение защитной функции гранулоцитов специфично для интоксикации бензолом: нарушения гемопоэза приводят к продукции функционально неполноценных фагоцитов. Следовательно, в этом случае включение фагоцитарного теста в комплекс токсикологических методик оправдано и полезно, так как может способствовать ранней диагностике интоксикации.

Но столь же вероятно, что патогенез изучаемой интоксикации и механизм выбранного иммунологического теста будут связаны с различными функциональными системами и осуществляться в различных тканях. В этом случае изменение иммунологических показателей может наступить только вследствие вторичных нарушений в организме и будет неспецифичным.

Известно, что в патогенезе хронической свинцовой интоксикации существенную роль играет поражение эритроцитарного ростка кроветворения, печени и толстого кишечника. Лимфоидная ткань, плазматические клетки, т. е. ткани, в первую очередь обусловливающие продукцию иммунных антител, первично не страдают при действии свинца. Как и следовало ожидать, в опытах К. К. Макашева (1956) изменение иммунитета наступало позже появления характерных изменений крови в случае отравления сравнительно малыми дозами (по 1 мл 0,5—1 % раствора ацетата свинца pro dosi до 0,35—2,1 г суммарно), а в случае более тяжелого отравления (по 1 мл 2,5—5 % раствора ацетата свинца pro dosi до 1,75—10,5 г суммарно) одновременно с ними. Нарушения иммуногенеза были связаны со вторичными патологическими процессами и являлись следствием, а не первичным выражением хронической свинцовой интоксикации. При других вариантах динамики и тяжести отравления ацетатом свинца можно наблюдать у кроликов и активацию иммуногенеза (Bickert, 1929), и отсутствие каких-либо нарушений по сравнению с контрольными животными (Velicogna, 1934), и даже резкое угнетение (В. К. Навроцкий, 1960).

В токсикологической практике могут встретиться и другие ситуации, вплоть до таких, когда иммунологические тесты, характеризующие определенные механизмы действия профессионального яда, мало помогают при установлении ПДК. В этом аспекте интересно исследование З. З. Брускина (1965) по изучению фагоцитарной реакции и продукции имунных антител у морских свинок и крыс, в течение 5 месяцев подвергавшихся ингаляционному воздействию аэрозолей веретенного и синтетического Б-3В масел в различных концентрациях (10—125 мг/м³). Нарушения иммунитета были выражены у всех подопытных животных, причем более показательно при ингаляции веретенного масла. Между тем последнее вызывало поражение лишь при накожной аппликации, в то время как синтетическое Б-3В масло было токсичным и при ингаляционном методе воздействия. Почему наблюдалось несоответствие в общетоксическом и антииммунном действии масел? Дело в том, что поражение иммунитета наступало не в результате развития интоксикации, а в результате блокады клеток ретикуло-эндотелиальной системы масляными каплями, т. е. инородными телами, фагоцитоз которых макрофагами легких осуществлялся интенсивно и независимо от общетоксического действия.

Следует также иметь в виду, что иммунологическая реактивность весьма лабильна. Состояние ее может изменяться не только при патологических изменениях, но и у практически здорового организма в период адаптации к воздействию новых факторов внешней среды, даже если интенсивность их невелика и патологического процесса они не вызывают (О. Г. Алексеева, 1965; О. Г. Алексеева и А. П. Волкова, 1952). Четкие, хотя и кратковременные, изменения иммунологической реактивности наступают и при эмоциональных нагрузках — возникновении чувства боли, страха, печали, радости, возбуждения (Д. Г. Пельц, 1958; Hadnagy, Kováts, 1954, и др.) или при неспецифических раздражениях кожных покровов (А. Н. Мешалова, 1959). Описанные факты объясняются тес-

ной зависимостью иммунологической реактивности от состояния нервно-эндокринной регуляции организма. Литература по этому вопросу весьма обширна (А. Д. Адо, 1964; П. Ф. Здродовский, 1963).

В свете изложенного выше целесообразно проанализировать основные результаты изучения различных иммунологических тестов в опытах по определению ПДК.

Кроме уже упоминавшихся работ по изучению продукции иммунных антител при отравлении свинцом, целесообразно остановиться на тех исследованиях данного профиля, в которых иммунизация проводилась на фоне уже начатого хронического отравления тем или иным веществом в концентрациях, близких к ПДК или превышающих их не более чем на порядок.

В качестве антигена во всех исследованиях, за исключением одного, применялась противобрюшнотифозная вакцина. Такая однотипность опытов позволила провести сравнительный анализ. Оказалось, что большинство испытанных профессиональных ядов вызывало угнетение продукции иммунных антител только при длительном отравлении. Они не изменяли или почти не изменяли первичного ответа, т. е. не влияли на процесс индукции антителогенеза. Существенное снижение титров наблюдалось лишь после ревакцинации, проведенной на более поздних этапах хронического отравления ртутью, анилином, нитробензолом, дихлорэтаном, окисью углерода, бензином (В. К. Навроцкий, 1960; И. М. Трахтенберг, 1964; Г. М. Мухаметова, 1966). При отравлении гамма-изомером гексахлорциклогексана снижение титров было значительным только перед гибелью животных (Е. Н. Буркацкая, 1959). Можно сделать вывод, что угнетение иммуногенеза при действии перечисленных профессиональных ядов, так же как и в случае отравления свинцом, являлось отражением вторичных патологических процессов (видимо, угнетения синтеза всех белков). Первичные же процессы интоксикации на перестройку синтеза неспецифических белков (синтез антител) не влияли. Только при действии таких ядов, как бензол, четыреххлористый углерод, сернистый газ, гексаметилендиамин, нарушения имели место уже при первичном иммунологическом ответе на ранних стадиях отравления (П. А. Самедова, 1957; Г. А. Анненков, 1957; В. К. Навроцкий, 1960; Л. Эрбан и Я. Коржинек, 1960; А. Е. Кулаков, 1965).

В. К. Навроцкий (1957, 1960, 1965) неоднократно высказывался в пользу указанного теста как наиболее чувствительного интегрального показателя. Однако опубликованные данные свидетельствуют о том, что чаще нарушение продукции иммунных антител наступает вслед за поражением других физиологических функций организма. Безусловно, в этом случае данный тест, требующий длительного времени для выявления реакции и введения чужеродного белка (вакцины или другого антигена), в свою очередь изменяет реактивность подопытного животного. Поэтому его вряд ли можно рекомендовать для включения в программу токсикологического опыта по установлению ПДК. Более логично исследовать морфологическими и биохимическими методами состояние тех систем, от функции которых зависит продукция антител.

Изучение титров нормальных иммунных белков сыворотки крови также оказалось малопригодным для токсикологических исследований по определению ПДК. Эти филогенетически древние механизмы защиты от чужеродных белков достаточно устойчивы. Так, количество комплемента в сыворотке крови не изменялось или колебалось весьма незначительно при хроническом действии ртути, гамма-изомера ГХЦГ, свинца, тетраэтилсвинца, нитробензола, четыреххлористого углерода, дихлорэтана, бензина, сернистого газа, бензола, анилина, окиси углерода в сравнительно малых концентрациях и существенно снижалось лишь при остром отравлении (Э. В. Давыдова, 1928; К. К. Макашев, 1956; П. А. Самедова, 1957; В. К. Навроцкий, 1957, 1960; Е. Н. Буркацкая, 1959, и др.).

В последние годы стали изучать уровень пропердина; возможно, это окажется несколько более чувствительным интегральным тестом на состояние общей, в том числе и антиинфекционной резистентности (Г. М. Шуб, 1964; Л. И. Софьина, 1965).

Известно, что значительно более лабильна бактерицидная активность сыворотки крови, которая зависит от взаимодействия ряда нормальных иммунных субстанций (В. С. Супоницкая, 1964). Однако нам встретились лишь единичные токсикологические исследования с использованием указанного иммунологического теста (Э. В. Давыдова, 1928; А. А. Никульцева, 1967). Между тем речь идет о достаточно чувствительном, технически не очень сложном тесте, отражающем состояние естественного гуморального иммунитета. Можно рекомендовать микрометоды А. С. Изралимского и М. В. Гуляевой (1953), Э. З. Рухадзе (1960). Если исследования проводятся на крупных лабораторных животных, то целесообразно использовать нефелометрический метод О. В. Смирновой и Т. А. Кузьминой (1966).

При изучении реактивности организма людей и лабораторных животных в условиях действия различных физических

факторов (облучение ионизирующими излучениями, работа без естественного света, космические полеты) нередко с успехом применялось определение бактерицидных свойств кожи (Н. Н. Клемпарская и О. Г. Алексеева, 1959; О. Г. Алексеева и А. П. Волкова, 1962; О. Г. Алексеева, 1965; Т. Д. Боченкова, 1965). Судя по данным А. А. Иванова (1965), эта методика может быть полезна и в токсикологических экспериментах. В первую очередь ее можно рекомендовать при изучении веществ, обладающих раздражающим действием на кожу. В этом случае изменение бактерицидных свойств кожи, по всей вероятности, будет специфичным показателем развития интоксикации.

При ингаляционном методе воздействия, особенно раздражающими веществами, большое значение имеет состояние барьерных свойств слизистой дыхательных путей. Между тем этот тест в токсикологии практически не используется. Имеется лишь старая работа Ronzani (1908).

Определение бактерицидных свойств кожи и слизистых может быть с успехом заменено изучением состояния аутофлоры, обитающей на них и реагирующей на малейшие изменения функции организма. К сожалению, и этот метод редко используется в токсикологии и гигиене труда (О. Г. Алексеева, А. П. Волкова, 1962; Г. Б. Штейнберг и Ф. Л. Вильшанская, 1963; Л. А. Дуева, 1965). Между тем манипуляции здесь просты, не травмируют обследуемого и дают представление не только о напряженности бактерицидных свойств покровов, но и о состоянии условно патогенной флоры, т. е. о резервуаре эндогенной инфекции, которая так часто осложняет профессиональные интоксикации (И. Г. Фридлянд[1], 1957). Микрофлору кожи удобнее всего изучать методом пластинок-отпечатков (Н. Н. Клемпарская и О. Г. Алексеева, 1959; О. Г. Алексеева и А. П. Волкова, 1962; О. Г. Алексеева, 1965), а микрофлору слизистых по методу Г. А. Шальновой (1962).

При клинико-гигиеническом обследовании из иммунологических тестов нередко применяют определение общей иммунологической реактивности по В. И. Иоффе, представляющей собой внутрикожный тест с сывороткой против нормальных белков человека. Тест В. И. Иоффе в последнее время стали применять и в токсикологических экспериментах (Г. М. Шуб, 1965). Однако полученные данные довольно противоречивы. Группа авторов (В. М. Шубик, Б. Э. Сафьян, Ю. Г. Шубик, 1959, 1960) среди рабочих, подвергающихся воздействию сернистого ангидрида, меркаптана или комплекса из сероуглерода, сероводорода и сернистого ангидрида в небольших концентрациях, наблюдали значительное (в $2^1/_2$—3 $^1/_2$ раза) увеличение числа лиц с пониженной реактивностью. В. К. Навроцкий и др. (1963), М. М. Тарнопольская и др. (1964) показали, что среди рабочих литейных цехов и завода химических реактивов наряду с увеличением числа лиц с отрицательной и сомнительной реакцией сохраняется довольно значительная группа с гиперреакциями. При этом оказалось, что при контакте с химическими аллергенами возрастает количество неспецифических реакций на белки сыворотки кролика. Эти данные позволили авторам прийти к выводу о нецелесообразности использования теста В. И. Иоффе у рабочих химических предприятий. При воздействии кремнесодержащих видов пыли и развитии силикоза описано как снижение (В. К. Навроцкий и др., 1963), так и повышение пробы В. И. Иоффе (С. И. Ашбель и др., 1952). Результаты сопоставления выраженности этого теста с уровнем инфекционной заболеваемости дают неоднозначные результаты не только при сравнении данных разных авторов, но даже и при сравнении двух аналогичных по условиям труда групп рабочих, обследованных одним авторским коллективом (В. К. Навроцкий и др., 1963).

Неоднородность результатов изучения общей иммунологической реактивности по В. И. Иоффе в известной мере, по-видимому, можно связать с методическими неточностями. Выраженность этого теста как феномена обратной анафилаксии во многом зависит от дозы введенных антител и от их специфичности.

Первое условие показательно иллюстрирует данные В. К. Навроцкого с соавторами (1963) о различии в интенсивности реакции рабочих литейных цехов в зависимости от дозы антител (введение сыворотки двух титров — 1 : 80 и 1 : 120). Контроль за специфичностью антител, учитывая сложность антигенной структуры тканей человека и отсутствие сведений о генотипах беспородных животных, практически невыполним.

При учете реакции следует иметь в виду и возможность влияния различных, не связанных с производством, общих и индивидуальных факторов. Известно, что реакция у практически здоровых людей повышается после полноценного отдыха, с улучшением социально-бытовых условий, снижается после перенесения многих соматических и инфекционных заболеваний и неоднозначно меняется при развитии инфекцион-

[1] И. Г. Фридлянд. О так называемом неспецифическом действии промышленных ядов. М., 1957.

но-аллергических состояний (например, при хроническом тонзиллите).

Изложенное позволяет сделать вывод об осторожности при трактовке результатов пробы В. И. Иоффе[1] при токсикологических и гигиенических исследованиях по обоснованию ПДК профессиональных ядов, так как в силу многообразия причин, влияющих на ее выраженность, требуется для статистически достоверных выводов очень большое число наблюдений. Уместно напомнить, что сам В. И. Иоффе (1956) анализировал десятки тысяч исследований.

Как уже упоминалось, наиболее распространенным иммунологическим тестом является фагоцитарная реакция организма. При анализе полученных данных мы остановимся лишь на исследованиях по хроническому действию веществ в низких концентрациях. Снижение величины различных показателей фагоцитарной реакции нейтрофилов крови по отношению к стафилококку, палочке Фридмана или другому тест-микробу нередко после фазы активации наблюдалось у лабораторных животных при воздействии ряда веществ (табл. 27).

Угнетение фагоцитоза микробов нейтрофилами крови практически здоровых рабочих, имевших контакт с сернистым газом, бензолом, ацетоном, хлористым этилом, свинцом, стиролом и различными комбинациями этих и других химических вредных веществ, показано многими авторами (Т. В. Рассказова, 1958; И. К. Атякина, 1959; Н. А. Жилова, 1959; Т. А. Козлова и А. П. Волкова, 1960; М. М. Трошина, 1966; А. В. Щеглова, 1963; Е. А. Котон и Т. Н. Данилова, 1963; В. К. Навроцкий и др., 1963). Активация фагоцитарной реакции у рабочих описана при действии силикозоопасной пыли (С. И. Ашбель и др., 1952) и в производстве изопренового каучука (А. А. Никульцева, 1967).

Высокая чувствительность фагоцитарной реакции объясняется участием этого механизма благодаря тесной зависимости от состояния нервно-эндокринной регуляции в формировании первичной неспецифической реакции организма на действие яда, а также последующим изменением под влиянием специфических или вторичных проявлений интоксикации. В первом случае характерна активация фагоцитоза, во втором — чаще наблюдают угнетение.

Большинство используемых методов позволяет учитывать только фазу поглощения фагоцитируемого объекта. Ее наиболее полно характеризует среднее число фагоцитированных микробов (или частичек пыли), приходящееся на один подсчитанный нейтрофил, — фагоцитарный индекс. Это интегральный показатель, величина которого зависит от двух переменных: числа клеток, участвующих в акте фагоцитоза, и интенсивности поглощения объектов фагоцитоза. Если под влиянием воздействия профессионального яда изменяется абсолютное число потенциальных фагоцитов, то для коррекции этого явления вычисляют абсолютное число фагоцитированных микробов (частиц пыли) и фагоцитирующих клеток в 1 мм³ крови (абсолютные показатели фагоцитоза). Многолетний опыт оценки фагоцитоза по этим показателям позволяет поддержать мнение А. Ф. Стояновского и Т. В. Рассказовой (1961) о недостаточности вычисления только процента участвующих в фагоцитозе клеток, как ранее было рекомендовано А. И. Пахомычевым (1960).

[1] В. И. Иоффе. В кн.: Основы иммунитета. М., 1956, стр. 21.

Таблица 27

Нарушение фагоцитарной функции нейтрофилов крови лабораторных животных при хроническом воздействии профессиональных ядов

Вещество	Объект изучения	Концентрация мг/м³	Автор
Ацетат свинца	Козы, собаки, кролики	Per os	А. Г. Алданазаров, 1956
Ацетон	Кролики	20	Л. В. Черняева, С. С. Кришталь, 1958
Бензол	»	60—180	Н. А. Самедова, 1957
	»	20—500	А. П. Волкова, 1959
Гексаметилендиамин	Крысы	0,04—1,0	А. Е. Кулаков, 1965
Двуокись азота	Кролики	2—5,7	Л. С. Митина, 1962
Ртуть	Крысы	0,015—0,07	И. М. Трахтенберг, 1964
Сернистый газ	Кролики	20	Т. В. Рассказова, 1958
	»	20—100	И. К. Атякина, 1959
	»	20—100	Л. С. Митина, 1962
Три- и тетрахлорэтилен	Крысы	100—200	Д. Г. Пельц, 1962
Хлористый этил	»	570	М. М. Трошина, 1966
Цианистый бензил	»	3	
Фуран	»	20—50	
Этиленамин	»	0,4—0,7	
Отвердитель «продукт 40А»	»	5—20	А. П. Волкова, 1960

В последнее десятилетие описаны методики, позволяющие определять и переваривающую функцию фагоцитов, которую оценивают по аналогичным показателям. Более подробно методы изучения и оценки фагоцитарной и переваривающей функции нейтрофилов крови различных лабораторных животных и людей изложены в работах О. Г. Алексеевой и А. П. Волковой (1962 и 1966), О. Г. Алексеевой (1965), А. П. Волковой и В. И. Тернова (1965).

При обосновании НДК нового химического вещества с еще недостаточно выясненным механизмом действия подчас сложно решить, при воздействии какой концентрации развивается хотя бы легкий патологический процесс, а при какой — изменение реактивности отражает физиологическую меру защиты. Особенно трудно оценить сущность изменения лабильной иммунологической реактивности. Однако, поскольку адаптационные изменения реактивности направлены на поддержание общей резистентности организма, адаптационные изменения иммунологической реактивности не должны сопровождаться снижением антиинфекционной резистентности. Следовательно, токсикологов и гигиенистов должно интересовать состояние естественного иммунитета, но не в плане прогноза инфекционных осложнений и агравации случайных инфекций у наблюдаемого контингента, а как показатель значимости изменения иммунологической реактивности.

Оценку антиинфекционной резистентности исследователи производили разными методами. Некоторые исследователи (И. Е. Троп, 1954) с этой целью изучали общую обсемененность крови и паренхиматозных органов аутофлорой, другие применяли заражение условно и абсолютно патогенными микробами (Ronzani, 1908—1909; Buresch, 1933; П. А. Самедова, 1957; Т. В. Рассказова, 1958; Г. М. Мухаметова, 1966). Однако указанные методы связаны с умерщвлением животных или гибелью их от инфекции, т. е. исключают динамические определения, и в силу этого не получили распространения в токсикологических экспериментах.

Нам представляется более правильным путь применения функциональных нагрузок, позволяющих оценить резерв компенсации. С этой целью В. И. Тернов (1964) с успехом применил изучение фагоцитарной функции нейтрофилов крови после введения чужеродного γ-глобулина. А. П. Волкова (1965) сопоставляла состояние фагоцитарных и бактерицидных свойств крови с выраженностью местной воспалительной реакции на введение (внутрикожное или, что еще удобнее, под апоневроз стопы крысы) того же тест-микроба. В токсикологических лабораториях широко используют также «физиологические» нагрузки, такие, как воздействие холодом, пониженным барометрическим давлением и т. д. Как показали первые опыты А. П. Волковой и А. И. Корбаковой, нагрузка в виде охлаждения (4 часа при +4°) также может выявить резервы компенсации и скрытое повреждение антиинфекционной резистентности у животных, подвергающихся хроническому воздействию анилина. У людей в качестве нагрузки можно использовать плановую вакцинацию (А. А. Никульцева, 1967).

Круг нагрузок на иммунологическую реактивность достаточно широк и, конечно, не исчерпывается приведенными. Однако, если имеется возможность для оценки антиинфекционной резистентности использовать кардинальные интегральные иммунологические тесты (титрование DL_{50} при заражении живой культурой или отравлении токсином), по нашему мнению, ими не следует пренебрегать.

СОПОСТАВЛЕНИЕ УСЛОВИЙ ТРУДА И СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ РАБОТАЮЩИХ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Основными критериями реальной токсичности и опасности химических веществ в условиях производства служат данные, характеризующие влияние их на организм работающих.

Считается признанным, что показатели токсичности профессиональных ядов, полученные только на основании экспериментов на животных, должны рассматриваться как ориентировочные. Они нуждаются в корректировании применительно к человеческому организму. С этой целью в производстве, где возможно воздействие изучаемого вещества на организм работающих, необходимо сопоставить условия их труда с показателями состояния здоровья.

Для характеристики состояния здоровья, а в некоторых случаях и заболеваемости, связанной с воздействием химического фактора, могут быть использованы различные материалы.

Важнейшим свидетельством реальной опасности химического вещества в условиях производства являются сведения о случаях острых профессиональных интоксикаций, которые этиологически связаны с действием изучаемого вещества. Первостепенная роль в установлении таких связей принадлежит своевременному и тщательному расследованию обстоятельств острого отравления в сопоставлении с данными клинического обследования пострадавшего.

В некоторых случаях установление зависимости возникших случаев интоксикаций от воздействующего химического агента не представляет затруднений, особенно если картина интоксикации включает в себя симптомы, типичные для данного вещества или группы веществ. Например, обнаружение метгемоглобина в крови пострадавшего на производстве, где возможен контакт с аминопроизводными бензола или другими метгемоглобинообразующими ядами, не вызывает сомнения в этиологическом факторе. В других случаях для установления этиологии остро возникшего нарушения здоровья используется весь необходимый арсенал средств дифференциальной диагностики.

В случае установления диагноза острого профессионального отравления важной задачей является выявление реальных условий действия вызвавшего интоксикацию агента, для чего привлекаются материалы гигиенического исследования.

Для решения вопроса о степени токсичности химического вещества для человека важно установить количественные показатели, иными словами, выявить, какие дозы или концентрации вызвали интоксикацию. Однако получение таких данных затруднительно[1], если отравление вызвано веществом, проникшим через кожу. Трудно получить такие сведения и в случае ингаляционного отравления, поскольку отбор проб воздуха для химического анализа на содержание вредного вещества, вызвавшего острое отравление, по понятным причинам не совпадает с моментом происшествия.

Для ориентировочного суждения о порядке величин могут быть использованы данные об упругости паров вещества и связанной с ней летучестью.

Помимо острых профессиональных отравлений, некоторое представление о степени токсичности веществ, преимущественно в сравнительном плане, может дать расследование случаев отравлений, возникших вследствие случайного или преднамеренного приема яда внутрь.

Для суждения о степени токсичности химического вещества и его кумулятивных свойствах большее значение, чем острые отравления, которые в настоящее время встречаются редко и не позволяют точно установить количество действующего агента, имеет выявление случаев хронических отравлений и заболеваний. Для получения таких материалов в первую очередь могут быть использованы результаты периодических медицинских осмотров лиц, подвергающихся воздействию вредных веществ на том или ином производстве.

Результаты осмотров необходимо разрабатывать за несколько лет по профессиям или по группам профессий, сформиро-

[1] Методы расчета поглощенной дозы по двум отстоящим по времени анализам биосред см., например, у Т. Дуткевича (1964).

ванных на основе общности условий труда с учетом стажа, пола и возраста. Полученные материалы следует сравнить с результатами предварительных медицинских осмотров рабочих при их зачислении на производство и со средними показателями, характерными для хорошо подобранной контрольной группы или для населения данной местности.

Для проведения клинико-гигиенических параллелей наибольший интерес представляют результаты медицинских осмотров, проводимых на нескольких предприятиях одного типа, но отличающихся по уровню вредности, или на одном и том же предприятии, где в результате проведенных оздоровительных мероприятий произошло существенное уменьшение содержания вредного вещества в воздухе. Сопоставление результатов медицинских осмотров лиц, работавших в прежних условиях, и лиц, поступивших на работу после значительного улучшения условий труда (с учетом возрастно-полового состава и стажа), может дать важный материал для суждения о порядке величин действующих (токсических или пороговых) концентраций.

Важное значение для выявления связей между отклонениями в состоянии здоровья работающих и конкретными условиями их труда имеют специально проводимые медицинские осмотры и углубленные клинические исследования, подкрепленные биохимическими анализами, вместе с данными гигиенических исследований.

В качестве примера можно привести данные клинико-гигиенических исследований, выполненных Институтом гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР (Н. И. Шумская, 1962). При обследовании в 1956 г. рабочих, занятых в производстве блочного и эмульсионного полистиролов, у 27 % лиц были обнаружены различные изменения печени. Начальные явления хронического отравления были определены у 28 человек, из них у 12 нарушения со стороны печени сочетались с неврологическими симптомами. Этиологическим фактором этих расстройств являются пары стирола, содержание которого в этот период в воздухе находилось на уровне сотых и десятых долей миллиграмма в 1 л воздуха. В связи с проведением оздоровительных мероприятий в этих производствах произошло снижение концентраций стирола в воздухе до сотых и тысячных долей миллиграмма на 1 л. Повторный (через 5 лет) осмотр не выявил ни одного нового случая интоксикации стиролом у рабочих, поступивших на предприятие после того, как условия труда улучшились (Н. С. Злобина, 1964). Однако обнаруженные случаи билирубинемии без других проявлений интоксикации

свидетельствовали о неблагоприятном влиянии паров стирола на функциональное состояние печени даже в указанных концентрациях, которые, следовательно, надо рассматривать как действующие.

Установление подобных корреляций является более затруднительным в тех случаях, если химическое вещество не обладает специфическим, избирательным действием на те или иные органы и системы или если действие выражено очень слабо (небольшие концентрации, небольшой стаж работы). В этих случаях необходимо привлечение значительного числа методов исследования. Полученные клинические материалы следует обрабатывать статистически, о необходимости чего писал Н. А. Вигдорчик еще в 1940 г., которому принадлежит термин «клинико-статистический метод».

В связи с небольшим содержанием химического вещества во внешней среде или коротким сроком воздействия не всегда представляется возможным выявить клинические проявления его действия на организм. Это, однако, не исключает возможности сдвигов в функциях отдельных органов и систем. Для выявления их необходимо проведение функциональных исследований с последующей оценкой их с учетом гигиенических данных.

Для проведения таких исследований важно подобрать однородную по половому и возрастному составу группу из 20—30 практически здоровых рабочих, находящихся в процессе труда под воздействием данного вещества. Желательно выделить подгруппы различного стажевого состава, в том числе лиц, только что начинающих трудовую деятельность в данном производстве. В качестве контрольной служит группа здоровых лиц, не подвергающихся воздействию токсического вещества, той же численности, такого же возрастно-полового состава.

Подбор комплекса методических приемов, направленных на выявление функциональных изменений (физиологических, биохимических, иммунобиологических), должен основываться на представлениях о механизмах действия вещества и о патогенезе возникающих при этом симптомов. По возможности используются тесты, которые в эксперименте на животных дали наиболее показательные результаты. Если вещество еще мало изучено, показано включение в комплекс исследования значительного количества разнообразных методик, с последующим исключением малопоказательных.

Физиологические исследования — артериальное давление, динамометрия и др. (Л. Г. Охнянская, 1967) — должны про-

водиться до и после рабочей смены, иногда и во время смены, на протяжении 4—5 дней. Необходимо параллельно производить анализы воздуха на содержание вредного вещества.

Для выяснения изменений функций, которые в силу своих особенностей не подвержены быстрым колебаниям во времени (например, иммунобиологические сдвиги, белковые фракции сыворотки крови и др.), ограничиваются более редкими динамическими исследованиями, всегда в определенное время дня.

Оценку полученных данных следует производить путем сопоставления их с исходными показателями того же лица, а также с показателями хорошо подобранной контрольной группы, применяя статистическую проверку достоверности разности и учитывая критерии вредности (Э. Б. Курляндская и И. В. Саноцкий, 1965).

Выявление функциональных изменений только в первые месяцы работы в контакте с химическими веществами, когда возникают первичные реакции, и исчезновение их в последующем (при условии наблюдения в течение ряда лет) в связи с развитием приспособительных реакций, позволяет некоторым авторам предположить, что содержание химических соединений в воздухе не превышает ПДК. Вместе с тем отличить истинную адаптацию от состояния компенсации патологических процессов бывает нелегко. Здесь могут оказать помощь различные функциональные нагрузки.

В токсикологии стадию «привыкания» считают фазой хронической интоксикации.

Наличие стойких функциональных изменений, а тем более их нарастание при динамических наблюдениях позволяет рассматривать воздействующие концентрации как превышающие допустимые.

В качестве тестов для выявления ранних сдвигов в организме работающих в контакте с химическими веществами предлагаются: психофизиологические тесты (тесты на внимание, запоминание и др.), измерение мышечной силы и выносливости к статическому усилию, измерение артериального давления, электрокардиография, исследование скорости зрительно-моторной реакции, адаптометрия, ольфактометрия, термометрия, исследование белковых фракций сыворотки крови, тимоловая проба, проба Квика; некоторые специальные пробы (определение карбоксигемоглобина, метгемоглобина в крови, активности различных ферментов, например, ацетилхолинэстеразы и т. д.). Неспецифическое действие химических веществ может быть выявлено с помощью исследования иммунобиологической реактивности организма. В некоторых случаях показано исследование мочи, крови, выдыхаемого воздуха на содержание токсического агента или продуктов его превращения (Teisinger с соавторами, 1959; И. Д. Гадаскина, 1964, и др.).

К функциональным исследованиям можно отнести определение порогов раздражающего действия и запаха некоторых веществ, проводимое на людях-добровольцах. При установлении ПДК для веществ, обладающих резкими запахами (например, меркаптаны) или раздражающим действием на верхние дыхательные пути, исследования на людях имеют решающее значение.

Для установления корреляций между количеством действующего химического вещества и состоянием здоровья рабочих в некоторых случаях могут оказаться полезными материалы о заболеваемости рабочих с временной утратой трудоспособности, а иногда и без потери ее. Следует, однако, иметь в виду, что анализ материалов официальной отчетности (по форме 3-1) имеет для этой цели весьма ограниченное значение ввиду недостаточной дифференциации содержащихся в ней сведений. Углубленная разработка данных, проведенная на основе более широкой (детализированной) номенклатуры нозологических форм, значительно более полезна. Однако при анализе результатов необходимо учитывать, что на показатели заболеваемости с временной утратой трудоспособности оказывают влияние многие и иногда трудно учитываемые факторы. Наиболее убедительных результатов от использования этих материалов можно ожидать в тех случаях, когда изучаемое токсическое вещество оказывает специфическое воздействие на одну из систем организма, поражение которой регистрируется при учете заболеваемости с временной утратой трудоспособности. Это относится, например, к гепатотропным ядам, в частности, к стиролу (Н. С. Злобина, 1964). Неспецифическое действие промышленных ядов также может отразиться на показателях общей заболеваемости (И. Г. Фридлянд, 1966). Целесообразно изучение показателей заболеваемости в сравнительном плане на однотипных промышленных объектах, с различным уровнем изучаемого токсического фактора, но с относительно близкими прочими условиями. Разработка и анализ данных заболеваемости производятся с учетом «гигиенического анамнеза» производства, т. е. данных гигиенических исследований за ряд лет. Все другие уже упомянутые материалы, характеризующие состояние здоровья работающих, также необходимо сопоставить с данными углубленных гигиенических исследований.

Гигиеническое исследование включает в себя ознакомление с исходными, промежуточными, побочными и конечными продуктами производства, их физико-химическими свойствами, особенно летучестью, возможными реакциями превращения во внешней среде. Выявляются источники выделения вредного вещества во внешнюю среду и условия действия его на работающих: содержание в воздухе, колебания концентраций во времени, время воздействия тех или иных концентраций на работающих, вероятность непосредственного контакта вещества с кожными покровами и загрязнения одежды, особенности микроклимата и иных физических факторов среды, характер трудового процесса, степень физического напряжения работающих, наличие других химических веществ. Присутствие в воздухе посторонних химических факторов, естественно, может сильно затруднить установление связей между показателями состояния здоровья работающих и количественной характеристикой изучаемого вещества. В этих случаях при оценке полученных данных необходимо учитывать комбинированное действие химических веществ. Следует помнить, что и неблагоприятный микроклимат, особенно высокая температура воздуха (З. А. Волкова, 1958; Е. М. Кореневская, 1965; Н. С. Злобина, 1964; Э. А. Капкаев, 1964; и др.), а также другие физические факторы (И. В. Саноцкий и др., 1962) могут оказать отягощающее влияние на развитие проявлений интоксикации.

Если исследователю предоставляется возможность выбора объекта для проведения клинико-гигиенического исследования, надо исходить из того, что наиболее приемлемым является такое производство (цех, отделение), где подлежащее изучению химическое вещество представляет собой единственный или преобладающий вредный фактор внешней среды, а в случае присутствия других химических агентов последние относятся к уже изученным, имеют установленные ПДК, содержатся в воздухе в концентрациях ниже предельно допустимых и отличаются от изучаемого характером действия на организм.

Следует отдать предпочтение такому производству, где в силу особенностей технологического процесса, аппаратурного оформления, планировочных решений и т. д. наблюдается относительное постоянство концентраций химического вещества в пределах величин одного порядка, приближающихся к ориентировочно установленной ПДК.

В комплексе гигиенических исследований ведущая роль принадлежит выявлению содержания вредного химического вещества в зоне дыхания работающих путем использования результатов ранее проведенных наблюдений, а также постановки специальных исследований (З. А. Волкова, 1965) с применением чувствительных аналитических методик, специфичных для выявления индивидуальных веществ.

При изучении клинико-гигиенических параллелей наиболее важным вопросом является установление корреляций между сдвигами в состоянии здоровья людей и количественными показателями токсического фактора. Определяются ли изменения в организме длительным действием наиболее часто встречающихся концентраций химического вещества или они связаны с кратковременным влиянием периодически возникающих значительно отклоняющихся от наиболее часто встречающихся величин, каково значение интермиттирующего действия данного химического агента, — вопросы в каждом случае надо решать индивидуально.

Гигиеническая значимость амплитуд колебания концентраций неодинакова для разных веществ и зависит от их особенностей.

В отношении ряда веществ имеются данные, что интермиттирующие концентрации оказывают более сильное воздействие, чем постоянные. Так, в отношении окиси углерода экспериментально доказано (И. Д. Гадаскина, Е. И. Люблина, Н. А. Минкина, М. Л. Рылова, 1961), что непрерывное вдыхание окиси углерода в постоянной концентрации оказало менее вредный эффект, чем редкие и кратковременные воздействия газа, но в концентрациях выше в 12—14 раз.

По экспериментальным данным Е. В. Кленовой (1949), наличие перерывов в действии органических растворителей на организм снижает токсический эффект, однако степень ослабления воздействия зависит от физико-химических свойств веществ.

По данным Н. А. Толоконцева (1960), интермиттирующее действие неэлектролитов, быстро насыщающих кровь при их вдыхании (хлороформ), вызывает у кроликов более выраженные нарушения условнорефлекторной деятельности, чем непрерывная затравка в тех же концентрациях. Для веществ-неэлектролитов, хорошо растворяющихся в крови и поэтому медленно насыщающих кровь, существенных различий в непрерывном и интермиттирующем воздействии не выявлено.

При установлении корреляций между изменениями в организме и содержанием химических веществ в воздухе необходимо учитывать способность всасывания некоторых из них через кожу.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЧЕЛОВЕКЕ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОРОГОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЛЕТУЧИХ ВЕЩЕСТВ

В настоящее время при гигиеническом ограничении содержания вредных веществ в воздухе производственных помещений обычно принято пользоваться тем или иным коэффициентом запаса. Такой прием в большинстве случаев объясняется тем, что чувствительность организма подопытных лабораторных животных и человека к токсическим продуктам может быть неодинакова. Для нормирования атмосферных загрязнений широко используются методы, позволяющие установить минимальные концентрации химических веществ, оказывающие влияние на человеческий организм. Этот подход предусматривает обоснование предельно допустимых концентраций на основе определения порогов действия токсических агентов в экспериментах на людях-добровольцах, что в свою очередь дает возможность существенно корректировать результаты, полученные в опытах на животных (В. А. Рязанов, К. А. Буштуева, Б. В. Новиков, 1957).

В промышленной токсикологии подобные исследования проводятся редко, хотя изучение реакций человека на пороговые раздражители может явиться связующим звеном между экспериментами на животных и гигиеническим нормированием. Следует подчеркнуть, что критерии вредности в промышленной токсикологии значительно отличаются от таковых в токсикологии коммунальной. В последней любые реакции человеческого организма с большой долей вероятности следует считать недопустимыми. Для промышленного токсиколога важна не столько сама реакция, сколько ее стойкость и неспособность организма при повторных экспозициях адаптироваться к действию вредного фактора. Вместе с тем начальные сдвиги со стороны физиологических функций человека в ответ на минимальный химический раздражитель в сопоставлении с характером и условиями труда могут явиться одними из основных критериев при установлении ПДК вредных веществ для промышленных помещений.

Большинство химических веществ, используемых в производстве, обладает специфическим запахом. Поэтому одними из наиболее распространенных показателей воздействия малых концентраций химических продуктов являются пороги обонятельного ощущения и восприятия запаха человеком, чаще— последний. Следует указать, что порог восприятия запаха

всегда лежит выше порога ощущения. Большое значение для определения порога восприятия запаха имеет степень знакомства человека с пахучим веществом.

Для одориметрических исследований отечественными и зарубежными авторами предложен ряд методических приемов и специальных приборов. Однако большинство применяемых методик не содержит элемента дозирования раздражителя: нюхательные движения различны по объему и поэтому вносят в исследования обонятельной чувствительности большую долю субъективности.

К таким методам относятся: непосредственное использование растворов исследуемых веществ, метод А. А. Ушакова (1932), одориметрия с помощью приборов Н. А. Савельева, Цваардемакера, Л. Б. Эпштейна (1938), Хеннинга, Н. Н. Попова, Е. Ф. Черкасова и О. Л. Трахтман (1952).

Неравномерность поступления газа в дыхательные пути, не позволяющая дозированно подавать раздражитель, в значительной мере устранена в приборах Эльсберга-Леви и А. И. Бронштейна (1950), являющихся дальнейшим усовершенствованием прибора Н. А. Савельева. Принцип дозированной подачи пахучего вещества положен в основу исследования обоняния и другими приборами, например А. В. Веденова (1940). Применение последних предполагает пересчет величин порогов восприятия запаха с объема подаваемого воздуха на концентрацию. При этом необходимо иметь данные о степени максимального насыщения воздуха парами пахучих веществ при определенной температуре, что для большинства химически чистых веществ известно.

Однако в практике часто приходится сталкиваться с нормированием смесей сложного химического состава. Для установления пороговых концентраций смесей указанные выше приборы непригодны.

В 1958 г. А. И. Вожжовой и А. А. Денисенко предложена установка для определения порога восприятия запаха, позволяющая при помощи системы медицинских шприцев разводить исходную концентрацию в необходимое число раз и через оливу подавать в нос. В наших исследованиях был использован способ разведения первоначальной концентрации в шприце Жане (100—150 см^3).

Для оценки возможности применения указанного способа при установлении пороговых концентраций пахучих химических веществ были проведены опыты с сероводородом — веществом, пороговая концентрация которого известна (табл. 28).

Таблица 28

Автор	Skramelik	Р.А. Логинова (1957)	А. К. Сгибнев (1960)
Концентрация	0,079 мг/м³	0,04 мг/м³	0,06 мг/м³

Из табл. 27 видно, что пороговые концентрации сероводорода, по данным указанных авторов, использовавших различные способы создания заданной концентрации, приблизительно одинаковы. Поэтому метод разведения исходной концентрации в шприце Жане может быть рекомендован при одориметрических исследованиях.

Указанный способ применялся при установлении порога восприятия запаха некоторых химических веществ, для которых этот параметр был неизвестен. Результаты исследований приведены в табл. 29.

Таблица 29

Пороги восприятия запаха различных веществ

Название вещества	Пороговая концентрация в мг/м³	Автор
Уксусная кислота	5,0	В. И. Михайлов, 1966
Индол	0,45	А. К. Сгибнев, 1960
Продукты термоокисления:		
триарилфосфатов	11,0	Он же, 1963
пентаэритритового эфира	4,0	» » 1964
себацинатов	0,1	» » 1966

Один из существенных недостатков одориметрии состоит в том, что этот метод субъективен и получаемые данные опроса весьма вариабельны и трудно поддаются статистической обработке. Поэтому следует признать целесообразным широко используемый в практике установления ПДК атмосферных загрязнений способ оценки порога восприятия запаха по результатам, полученным у лиц с наибольшей чувствительностью, с одновременным установлением максимально неощутимых концентраций.

За последнее время широкое применение при установлении пороговых концентраций токсических веществ приобретают объективные методы изучения функциональных сдвигов со стороны центральной нервной системы: оценка состояния анализаторов — адаптометрия, аудиометрия, адекватометрия, разнообразные виды хронаксиметрических методик, измерение скрытого времени рефлексов, различные варианты методик по выработке условных рефлексов. Вместе с тем все чаще используются методы регистрации ориентировочного рефлекса по изменению биоэлектрической активности коры головного мозга, возникновение кожно-гальванического рефлекса, пневмографическое и плетизмографическое определение порога химического воздействия и т. д.

В большинстве случаев все указанные выше методики имеют в своей основе выявление начальных функциональных изменений в коре головного мозга, развивающихся в ответ на воздействие газообразных токсических веществ или паров на слизистую оболочку верхних дыхательных путей. В результате раздражения окончаний обонятельного и тройничного нервов в коре головного мозга возникает очаг возбуждения, способный, с одной стороны, к иррадиации на соседние зоны и, с другой — вызывающий по закону отрицательной индукции торможение в отдельных участках коры. Это в свою очередь приводит к изменению характера протекания корковых процессов, что и регистрируется исследователем при помощи различных приемов. Одновременно те же воздействия на верхние дыхательные пути обусловливают возникновение неспецифических рефлекторных ориентировочных реакций со стороны центральной и вегетативной нервной системы типа «что такое?» (по И. П. Павлову).

Указанные физиологические методы установления пороговых концентраций в опытах на человеке достаточно точны. Однако они требуют соблюдения ряда условий: изолированной камеры, отсутствия каких-либо посторонних раздражителей, кроме заданного, устранения электрических помех, нормального режима труда и отдыха перед испытанием и т. д.

При использовании упомянутых методов исследуемого помещают в изолированную экранированную гладкостенную камеру. На лицо исследуемого надевают кислородную маску. В камеру через шланг в подмасочное пространство подают изучаемое вещество, как показано на рис. 59.

Подача вещества в подмасочное пространство может осуществляться несколькими способами. Обязательным условием является отсутствие ощущения исследуемым движения воздуха в подмасочном пространстве или изменения скорости его движения, так как уже сама струя воздуха представляет собой безусловный раздражитель (цит. по С. В. Кравкову, 1940).

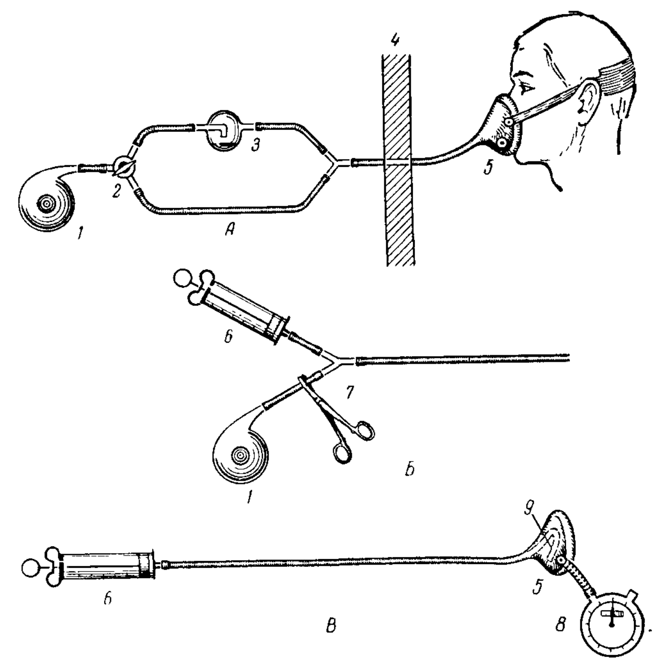


Рис. 59. Способы подачи пахучего вещества.

А — с помощью стеклянного гуська; *Б* — шприцем Жане с отключением потока воздуха; *В* — шприцем Жане через вмонтированную в маску изогнутую стеклянную трубку.

1 — воздуходувка; *2* — трехходовой кран; *3* — стеклянный гусек; *4* — стена камеры; *5* — кислородная маска; *6* — шприц Жане; *7* — зажим; *8* — газовые часы; *9* — стеклянная изогнутая трубка.

Для летучих веществ, растворимых в воде, таких, как аммиак, сероводород и др., целесообразно использовать различные виды стеклянных гуськов. При этом в подмасочное пространство подается воздух с постоянной скоростью 2—2,5 л/мин и периодически при помощи трехходового крана производится быстрое переключение потока на другую магистраль через гусек (рис. 59, *А*).

При установлении пороговых концентраций веществ, плохо растворимых в воде и мало летучих, а также при исследовании аэрозолей или продуктов термоокисления различных масел и синтетических материалов для подачи вещества в подмасочное пространство можно использовать шприц Жане. В этих случаях также необходимо исключить влияние воздушной струи. В период подачи пахучего вещества из шприца Жане (2—3 секунды) воздушная магистраль из воздуходувки перекрывается и через тройник вещество поступает с той же скоростью, что и чистый воздух (рис. 59, *Б*). Раздражитель подается в зону дыхания на вдохе.

В другом варианте опытов чистый воздух в подмасочное пространство от воздуходувки не поступал, а из шприца в течение периода вдоха подавалось исследуемое вещество в определенных разведениях. Чтобы исключить ощущение движения воздуха в подмасочном пространстве, на передней стенке маски монтировали штуцер, куда вставляли загнутую стеклянную трубку (дефектор) (рис. 59, *В*). Клапан выдоха маски соединяли с газовыми часами. Отсчет дыхательного объема позволял иметь достаточно точное представление о количестве вещества, поступающего через верхние дыхательные пути в легкие за один вдох.

Несомненный интерес представляет довольно часто используемый для установления порога рефлекторного действия исследуемого вещества метод определения адекватной оптической хронаксии, являющейся весьма чувствительным показателем функционального состояния нервной системы. Длительность хронаксии регистрируется у исследуемого по возникновению явления фосфена, вызванного воздействием и импульсов электрического тока силой в две реобазы. Пороговая концентрация определяется по изменению величины хронаксии (а иногда и реобазы) до и после воздействия изучаемого вещества.

Определение адекватной оптической хронаксии наряду с прочими методами было использовано М. Т. Тахировым (1960) при обосновании ПДК хлора, Р. С. Гильденскиольдом (1962) при нормировании сероуглерода, Е. В. Елфимовой (1962) при установлении порога действия аэрозоля соляной кислоты и рядом других авторов.

Весьма широкое распространение приобрел адаптометрический метод, основывающийся на определении характера степени сдвигов в световой чувствительности глаза по изменению кривой темновой адаптации под влиянием малых концентраций изучаемых веществ. При использовании указан-

ного метода в основе установления пороговых концентраций различных ядов лежит сравнение адаптометрических кривых, полученных до и после воздействия раздражителя — испытуемого вещества. В другом варианте методики при подаче раздражителя в ходе определения световой чувствительности оцениваются возникающие при этом изменения характера кривой.

Еще в 20-х годах П. П. Лазарев, изучая световую адаптацию глаза, обнаружил возникновение резких колебаний чувствительности глаза к световому раздражителю под влиянием ряда внешних факторов, так или иначе воздействующих на кору головного мозга.

Следует также упомянуть работы П. О. Макарова (1936), К. Х. Кекчеева и О. А. Матюшенко (1937), посвященные изучению воздействия обонятельных раздражителей на сумеречное зрение, С. В. Кравкова (1940) и Л. И. Селецкой (1948), исследовавших влияние некоторых веществ на цветовое зрение.

К. А. Буштуева (1957), использовав определение световой чувствительности при установлении пороговой величины концентрации серной кислоты, показала, что реакция зрительного анализатора на воздействие аэрозоля этой кислоты носит выраженный фазовый характер. Автор отмечает совпадение порогов раздражающего действия, определенных адаптометрическим методом и путем регистрации субъективных ощущений.

В исследованиях М. М. Плотниковой (1960) адаптометрия оказалась наиболее чувствительным методом при определении порога рефлекторного действия акролеина. На основе полученной пороговой величины автором рекомендована предельно допустимая максимально разовая концентрация акролеина в атмосферном воздухе.

В последние годы был выполнен ряд исследований по определению порога действия токсических веществ адаптометрическим методом (Г. И. Соломин, 1964; Р. Убайдуллаев, 1966; М. М. Сайфутдинов, 1966).

Одним из распространенных методов установления пороговых концентраций токсических продуктов является плетизмография. При использовании этого метода исследуется сосудистый компонент вегетативной реакции, возникающей в ответ на действие подаваемого газообразного вещества. Принцип методики состоит в определении изменений объема части тела, заключенной в герметическую емкость, которая соединена с устройством для записи малых колебаний давления. Указанные изменения объема происходят под влиянием увеличения или уменьшения кровенаполнения и связаны с возникновением определенных рефлексов со стороны сердечно-сосудистой системы. По характеру плетизмограммы оценивается скорость возникновения сосудистой реакции, а также ее интенсивность.

В исследованиях М. К. Борисовой (1960) плетизмография была использована при установлении пороговой концентрации дихлорэтана. По мнению автора, сосудистые реакции ввиду их высокой подвижности и отчетливости могут служить весьма чувствительным индикатором корковых процессов у человека. Указанный метод применялся также рядом других исследователей, в частности Е. В. Елфимовой (1962) при нормировании аэрозоля соляной кислоты.

Мы рекомендуем использовать комплекс некоторых физиологических методик, который, на наш взгляд, является достаточно чувствительным при определении порогов воздействия химических веществ: «электрокортикальный» условный рефлекс, запись пневмограммы при помощи угольного датчика, кожно-гальваническая реакция, электроэнцефалограмма в униполярных отведениях с затылка, темени и лба, электрокардиограмма и частота мигания.

Регистрация указанных выше показателей производится одновременно при помощи самопишущего восьмиканального электроэнцефалографа. Такой подход, по нашему мнению, исключает зависимость результатов, характеризующих начальные функциональные сдвиги в организме, от временного фактора и непостоянства условий эксперимента, что имеет место при определении порогов различными способами в случаях раздельной записи исследуемых физиологических функций.

Исследования начинали с заведомо неощутимых концентраций, постепенно увеличивая их.

Для опытов по выработке «электрокортикального» условного рефлекса на запах предварительно отбирают лиц, имеющих четко выраженный альфа-ритм. Безусловным раздражителем является свет, который, изменяя электрические процессы в центральном участке зрительного анализатора, приводит к угнетению альфа-ритма. Возможность условнорефлекторного угнетения альфа-ритма при сочетании света с индифферентным раздражителем установлена П. И. Шпильберг (1947). На этой основе К. А. Буштуева, Е. Ф. Полежаев и А. Д. Семененко (1960) предложили метод, позволяющий регистрировать воздействие минимальных концентраций химических соединений, которые раздражают окончания обонятельного и трой-

ничного нерва. Этот метод рекомендован Государственным комитетом по санитарной охране атмосферного воздуха для обоснования предельно допустимых концентраций ядов в атмосфере населенных мест.

В. А. Рязанов охарактеризовал указанный метод как один из наиболее удобных и чувствительных для целей нормирования раздражающих веществ. Метод выработки «электрокортикального» условного рефлекса нашел широкое применение в работах ряда авторов (Ю. Г. Фельдман, 1962; Ли Шэн, 1963; Р. Убайдуллаев, 1966; Б. Мухитов, 1963; Д. Г. Одошашвили, 1963).

В наших исследованиях был принят следующий порядок образования условного рефлекса: на фоне 15-секундного действия вещества в последние 5 секунд включался свет. Во избежание образования условного рефлекса на время сочетания производились через различные промежутки — от 2 до 5 минут. Концентрация считалась недействующей, если условный рефлекс не вырабатывался после 25 сочетаний. Этим методом И. М. Алпатов установил порог рефлекторного действия аммиака.

Изменения в записях дыхания, кожно-гальванической реакции и электроэнцефалограммы являлись объективными показателями воздействия изучаемых химических веществ на рефлексогенные зоны верхних дыхательных путей. Все эти три показателя являются компонентами ориентировочной реакции.

Начало действия любого раздражителя выражается не специфической, а общей для всех раздражителей ориентировочной реакцией (Е. Н. Соколов, 1959). Понятие об ориентировочном, исследовательском рефлексе было разработано И. П. Павловым. Важнейшим возбудителем такого рефлекса является новизна раздражителя (П. К. Анохин, 1941).

Следует подчеркнуть, что специальным сильным возбудителем ориентировочной реакции может быть раздражитель, близкий к порогу восприятия (Ф. П. Майоров, 1955). При этом «закон силы» не соблюдается, что отличает ориентировочную реакцию от обычного рефлекса (П. С. Купалов, В. Х. Гент, 1952; А. И. Макарычев, 1947).

Изменение характера дыхания в момент подачи химических веществ, раздражающих окончания обонятельного и тройничного нерва, является чувствительным тестом, благодаря которому можно уловить влияние весьма малых концентраций ядовитых веществ (М. К. Борисова, 1960; М. М. Плотникова, 1960).

В экспериментах Е. В. Елфимовой (1962) при установлении ПДК аэрозоля соляной кислоты пневмограмма (ритм и глубина дыхания) оказалась одним из наиболее чувствительных показателей воздействия.

Кожно-гальванический рефлекс — хорошо регистрируемая реакция, являющаяся индикатором тонуса симпатической нервной системы (А. И. Бронштейн, 1950). Существуют две формы кожно-гальванических изменений: феномен Тарханова (1889), состоящий в генерации электрических потенциалов кожи, и феномен Фере, выражающий изменение сопротивления кожи. Оказалось, что обе формы кожно-гальванических изменений отражают одну и ту же рефлекторную реакцию (В. А. Кожевников, 1955), которая имеет сложную рефлекторную дугу, включающую центральные отделы нервной системы (В. Н. Мясищев, 1945). На протекание кожно-гальванического рефлекса оказывает влияние ретикулярная формация, играющая важную роль в механизмах активации корковой деятельности (Hbonvallet, Dellet, Hieb, 1954; Wang, Stein, Brown, 1956).

В наших исследованиях мы предпочитаем производить запись феномена Тарханова, так как для определения пороговых концентраций химических веществ количественная характеристика величины ответной реакции не является обязательной. Кроме того, регистрация указанного феномена не требует дополнительной аппаратуры. Электродами служили серебряные пластинки диаметром 15 мм, обернутые ватой и смоченные физиологическим раствором. Электроды крепят резиновой повязкой на обезжиренные участки ладони и тыльной поверхности кисти.

Электроэнцефалограмма регистрируется при закрытых глазах, амплитуда калибруется на 50 или 100 мкв, диапазон частот от 3 до 50 гц. Подбирают исследуемых, имеющих четко выраженный альфа-ритм. Участки десинхронизации альфа-ритма, реже — его экзальтации или появление бета-ритма на фоне альфа-волн свидетельствуют о рефлекторном влиянии исследуемых веществ на спонтанную биоэлектрическую активность коры головного мозга. Для иллюстрации приводятся образцы записей описанных изменений физиологических функций (рис. 60, *А*, *Б*, *В*).

На рис. 60, *А* видно, что при подаче в подмасочное пространство чистого воздуха каких-либо реакций не отмечается. При воздействии концентрации на уровне пороговой (субъективно — запах неопределенный) появился характерный «всплеск» кожно-гальванического рефлекса; изменений дыхания и электроэнцефалограммы еще не наблюдается (рис. 60, *Б*). На

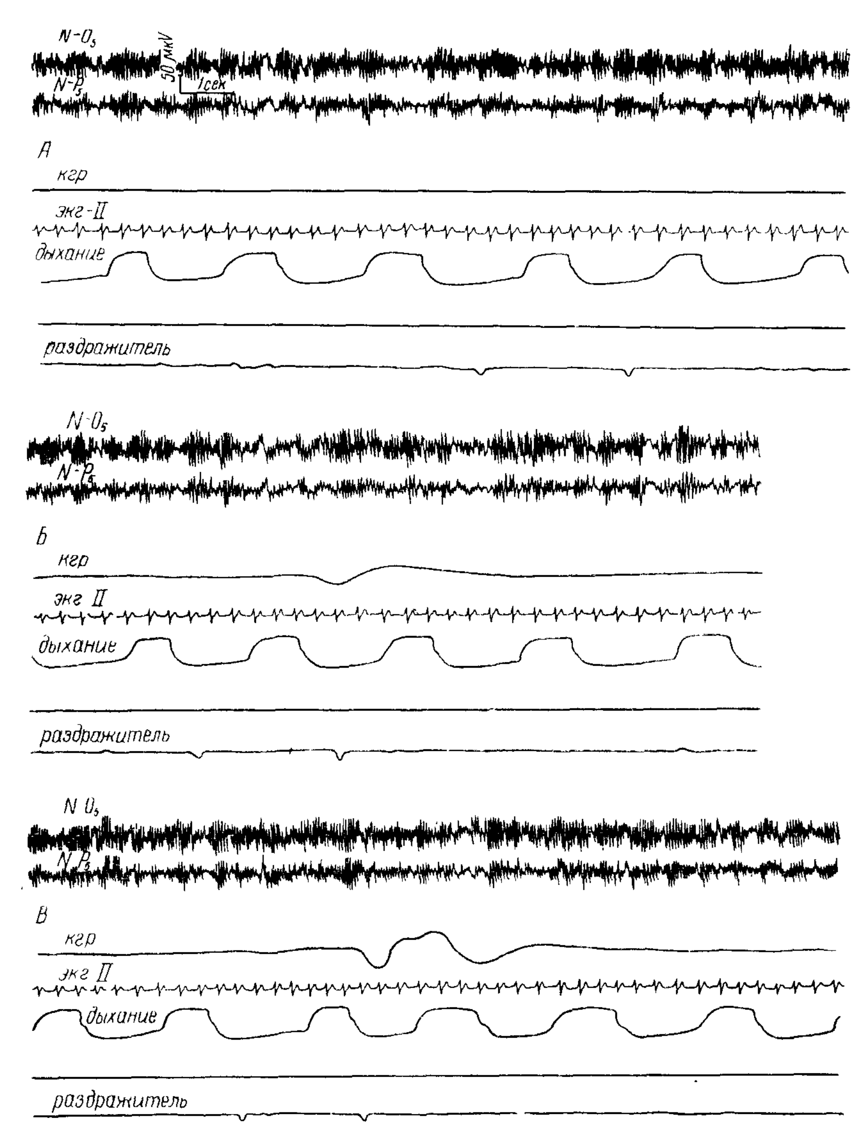


Рис. 60. Изменения физиологических функций под влиянием продуктов термической деструкции синтетического масла.

А — чистый воздух; *Б* — концентрация на уровне порога воздействия; *В* — концентрация, превышающая пороговую в 10 раз.

рис. 60, *В*, когда воздействующая концентрация превышала пороговую в 10 раз (субъективно — запах слабый), помимо кожно-гальванического рефлекса, отмечаются изменения дыхательного ритма; на электроэнцефалограмме появились частые колебания типа «бета» на фоне четко выраженного альфа-ритма. Таким образом, из данных, приведенных на рис. 60, следует, что наиболее чувствительным показателем воздействия изучаемых продуктов на организм человека оказался кожно-гальванический рефлекс. Его особенность состоит в том, что повторное воздействие раздражающих («тригеминальных») веществ на рецепторы верхних дыхательных путей каждый раз вызывает характерный «всплеск» кривой, тогда как при повторном воздействии «ольфактивных» веществ наблюдается затухание кожно-гальванического рефлекса более чем в 72% случаев (С. С. Мусящикова, 1950, 1952).

При разработке допустимых норм для некоторых веществ, применяемых в промышленности, важным показателем может быть порог раздражающего действия на слизистые оболочки верхних дыхательных путей и глаз. Кроме ответа исследуемого об ощущении, объективным показателем раздражающего действия вещества на слизистую оболочку дыхательных путей может служить описанная выше кожно-гальваническая реакция.

Показателем раздражения слизистой оболочки глаз является изменение частоты мигания. Для записи этого показателя в наших исследованиях применялись серебряные электроды диаметром 5—6 мм. Один из них крепился у наружного края надбровной дуги, другой (нейтральный) — на мочку уха. Необходимо отметить, что обязательное условие при регистрации частоты мигания — постоянство освещенности рабочего места.

Установление порога раздражающего действия служит весьма существенным методом оценки вновь вводимых в практику химических веществ.

Для установления минимально действующих концентраций в промышленной токсикологии возможно применение ряда других методик, например психологических тестов (В. И. Михайлов и др., 1966; Schulte, 1963), различных нагрузочных проб, адекватных соответствующей профессии. Использование той или иной методики в каждом случае зависит от ряда факторов и в первую очередь от свойств нормируемого вещества и точек приложения его действия, так как чувствительность методик во многом обусловливается особенностями влияния на организм исследуемого соединения. При выборе метода

необходимо также учитывать особенности производственной деятельности контингента работающих с продуктом.

В заключение следует отметить, что успешный опыт использования в практике нормирования атмосферных загрязнений экспериментов на людях-добровольцах для установления пороговых концентраций токсических веществ еще не привлек, к сожалению, должного внимания промышленных токсикологов.

Вместе с тем, например, установление порога восприятия запаха в сопоставлении с параметрами токсичности позволяет оценить степень опасности некоторых ядов в производственных условиях. Пороги рефлекторного действия хотя и не обладают в большинстве случаев гигиенической значимостью в промышленной токсикологии, тем не менее дают возможность определить первичную границу восприимчивости человека к внешнему воздействию. Следует придавать большее значение установлению порогов раздражающего действия, которые могут быть непосредственно использованы для обоснования ПДК ряда промышленных веществ. И хотя некоторые показатели, полученные в экспериментах на человеке, не всегда имеют решающее гигиеническое значение для нормирования химических веществ в условиях производства, нельзя не отметить наличия существенной разницы между уровнями действующих в настоящее время ПДК для промышленных помещений и величинами порогов восприятия запаха, а также рефлекторного действия отдельных токсических веществ.

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРОБЫ В ДЕРМАТОЛОГИИ

Для выявления повышенной чувствительности человека к химическим агентам в дерматологической практике применяется метод кожных проб, осуществляемый путем нанесения предполагаемого раздражителя в минимальных количествах на неповрежденную или скарифицированную кожу. Появление реактивных явлений на месте воздействия раздражителя и отсутствие их у контрольных лиц служат доказательством наличия повышенной чувствительности (аллергии).

Диагностические пробы на коже на первый взгляд являются одним из простейших методов для выявления аллергического состояния. Однако при этом методе возникают трудности при нанесении веществ (оно должно приближаться к нормальным условиям функционирования кожи), а также в объективной оценке возникающих реакций. Необходим критический подход к оценке ложноположительных и ложноотрицательных реакций.

На практике наибольшее применение получил метод накожных проб (Н. С. Ведров, 1933; А. П. Долгов, 1956, 1958; Jäeger, 1955; Jadassohn, 1931, 1938; Bloch, 1924), так как при нанесении раздражителя на скарифицированную кожу никогда нельзя исключить влияние вторичной инфекции. При этом могут возникнуть реактивные явления не только на химический раздражитель, а также и на микробный фактор.

Вводя предполагаемый аллерген внутрикожно, даже в минимальных количествах можно получить весьма резкие и не только местные, но и очаговые и даже общие тяжелые реакции, что весьма нежелательно.

Капельный метод выявления повышенной чувствительности был разработан дерматологическим отделением Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР. В настоящее время этот метод несколько упрощен (А. П. Долгов) и применяется для выявления повышенной чувствительности к химическим веществам. По простоте применения он не только доступен в амбулаторной обстановке, но с успехом может быть применим на производстве.

Указанный метод заключается в следующем. Готовят растворы исследуемых веществ разных концентраций в этиловом спирте. Если вещество не растворяется в спирте 96% концентрации, спирт берут меньшей крепости. Приготовленные растворы вещества наносят по одной капле на кожу верхней половины живота. Спирт испаряется, а на поверхности кожи остается минимальное количество испытуемого вещества. Место нанесения капли ничем не обрабатывают и не закрывают, а только обводят чернилами или чернильным карандашом. Реактивные явления на месте нанесения возникают через несколько часов (6—8 часов, иногда несколько минут). Результат реакции оценивается спустя сутки от момента нанесения. Изменения на коже выражаются: эритемой, отеком, папулами и везикулами на месте нанесенной капли. Иногда в случае высокой чувствительности появляются высыпания, выходящие за пределы нанесения раздражителя. Реактивные явления на коже морфологически обычно повторяют первичные высыпания, имеющиеся на очагах поражения. Изредка реакция возникает замедленно, высыпания появляются через большее время, спустя 48 или даже 72 часа. Отчетливая реакция на наибольшее разведение дает возможность составить представление о степени чувствительности данного лица к испытуемому веществу.

12—732

Jäger (1955), Jadassohn (1931, 1938), Bloch (1924) предложили метод наложения испытуемого вещества на неповрежденную кожу, получивший название «компрессного» метода (лоскутные пробы). Компрессный метод накожных проб заключается в наложении на сгибательную поверхность кожи плеч или предплечий марли, смоченной раствором испытуемого вещества. Кусочки марли, сложенной вчетверо, берут небольшого размера (2 см²). Марлю покрывают кусочком медицинской клеенки несколько большей площади. Ее со всех сторон фиксируют каучуковым липким пластырем и дополнительно укрепляют бинтом. Пробы удаляют обычно спустя 24 часа; если испытуемое вещество начинает беспокоить больного, их удаляют раньше указанного срока. Обычно после удаления пластыря, клеенки и марли редко можно судить о наличии или отсутствии реакции, так как этому мешают побочные явления: раздражение от пластыря, клеенки и давления бинта. Оценка результатов испытания происходит спустя 48 часов от момента наложения вещества. Нанесение нескольких проб при испытаниях повышенной чувствительности не к одному, а к нескольким веществам обычно вызывает затруднение в оценке полученных результатов.

За последние годы вместо лоскутных проб применяют специальный пластырь с округлым углублением в центре, на дне которого укреплен кружок марли, так называемый тесто-пласт. Глазной пипеткой на марлю наносят каплю вещества, если оно жидкое, или раствора его в воде, масле или каком-либо другом растворителе. Место нанесения — кожа спины. В ряде случаев само вещество «тесто-пласта» (пластырь) вызывает раздражение, что затрудняет объективную оценку возникающих явлений на коже.

Однако исключить влияние того или иного вещества в случае отрицательного результата накожных проб нельзя. Положительные реакции только подтверждают правильность диагноза, а отрицательные не отвергают его. Отрицательные результаты накожных проб чаще всего наблюдаются в тех случаях, когда повышенная чувствительность к моменту испытания не развилась. Обычно повышенную чувствительность методом накожных проб удается выявить в среднем только спустя 12 дней от начала заболевания. Применение накожных проб особенно показано при выявлении из комплекса раздражителей того вещества, которое имеет доминирующее значение в возникновении заболевания у данного больного. При нанесении проб во избежание ошибок необходимо точно регистрировать, в какой последовательности нанесены вещества.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица I

ТАБЛИЦА УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ ОСНОВНЫХ ПАРАМЕТРОВ ТОКСИКОМЕТРИИ

DL_{50}, DL_{16} — смертельная доза, вызывающая гибель соответственно 50, 16 и 84% животных (результаты пробит-анализа) при введении в желудок.

DL^{c}_{50}, DL^{c}_{16} — то же при аппликации на кожу, под кожу (sc), в вену (v), в брюшину (p), в трахею (t) и т. д.

CL^{120}_{50} м — смертельная концентрация, вызывающая гибель 50% животных (м — мышей, кс — крыс, кк — кроликов, кш — кошек, сб — собак), при экспозиции 120 минут (4 ч — четыре часа) и т. д.

Lim_{ac} — порог острого действия — минимальная концентрация (доза), вызывающая биологический эффект в остром эксперименте при экспозиции 4 часа (показатель воздействия отдельно).

Lim_{ch} — то же в хроническом эксперименте (для крыс и мышей 4 месяца по 4 часа в день, 5 дней в неделю) (порог хронического действия).

Lim_{ir} — порог раздражающего действия на слизистые оболочки при стандартных условиях.

S — фактор угла наклона линии доза — эффект $\left[\text{для смертельных доз} — \left(\frac{DL_{84}}{DL_{50}} + \frac{DL_{50}}{DL_{16}}\right) : 2\right]$.

Z_{ac} — зона острого действия $\left(\frac{CL_{50}}{Lim_{ac}}\right)$.

Z_{ch} — зона хронического действия $\left(\frac{Lim_{ac}}{Lim_{ch}}\right)$.

K_{cum} — коэффициент кумуляции. (отношение половинной смертельной дозы при однократном введении к суммарной половинной смертельной дозе при ежедневном введении $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{20}$ однократной DL_{50}).

K_s — коэффициент запаса.

ПДК — предельно допустимая концентрация.

КВИО — коэффициент возможности ингаляционного отравления $\left(\frac{C^{20°}}{CL^{120}_{50}\ м}\right)$.

Таблица II

ЗНАЧЕНИЕ t ПРИ ДАННОМ ЧИСЛЕ СТЕПЕНЕЙ СВОБОДЫ f И ДАННОЙ ВЕЛИЧИНЕ ВЕРОЯТНОСТИ P (ТАБЛИЦА СТЬЮДЕНТА)

f \ P	0,5	0,25	0,1	0,05	0,02	0,01	0,002	0,001
1	1,00	2,41	6,31	12,7	31,82	63,7	318,3	637,0
2	0,816	1,60	2,92	4,30	6,97	9,92	22,33	31,6
3	0,765	1,42	2,35	3,18	4,54	5,84	10,22	12,9
4	0,741	1,34	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
5	0,727	1,30	2,01	2,57	3,37	4,03	5,89	6,86
6	0,718	1,27	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
7	0,711	1,25	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,40
8	0,706	1,24	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
9	0,703	1,23	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
10	0,700	1,22	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
11	0,697	1,21	1,80	2,20	2,72	3,11	4,03	4,44
12	0,695	1,21	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
13	0,694	1,20	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
14	0,692	1,20	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
15	0,691	1,20	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
16	0,690	1,19	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
17	0,689	1,19	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,96
18	0,688	1,19	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61	3,92
19	0,688	1,19	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58	3,88
20	0,687	1,18	1,73	2,09	2,53	2,85	3,55	3,85
21	0,686	1,18	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53	3,82
22	0,686	1,18	1,72	2,07	2,51	2,82	3,51	3,79
23	0,685	1,18	1,71	2,07	2,50	2,81	3,49	3,77
24	0,685	1,18	1,71	2,06	2,49	2,80	3,47	3,74
25	0,684	1,18	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45	3,72
26	0,684	1,18	1,71	2,06	2,48	2,78	3,44	3,71
27	0,684	1,18	1,71	2,05	2,47	2,77	3,42	3,69
28	0,683	1,17	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41	3,67
29	0,683	1,17	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40	3,66
30	0,683	2,17	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39	3,65
	0,674	1,15	1,64	1,96	2,33	2,58	3,09	3,29

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$$

$\bar{x}$ — средняя арифметическая;
n — число членов вариационного ряда;
Σ — знак суммирования стоящих после него величин.
S — стандартное отклонение.

$$S = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$S_{\bar{x}}$ — стандартная ошибка.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{S_{\bar{x}_1}^2 + S_{\bar{x}_2}^2}}$$

Вычисленное значение t сравнивают со значением t в той строке табл. II, которой соответствует $f = n_1 + n_2 - 2$, и определяют величину P.

ЛИТЕРАТУРА

а) Отечественная

Авхименко М. М. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 3, 37—42.
Адо А. Д. В кн.: Многотомное руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней, 1964, т. 3, с. 86.
Адонкин Ф. С. Лабор. дело, 1963, 12, 12—15.
Аксюк А. Ф. В сб.: Вопросы токсикологии и патофизиологии в гигиене. Ученые записки Института им. Ф. Ф. Эрисмана. М., 1960, 3, 22—24.
Алданазаров А. Г. Труды Института краевой патологии АН Казахской ССР, 1956, т. 4, с. 42.
Алдырева М. В. Гиг. и сан., 1963, 7, 18—23.
Александров А. Ф. Сов. мед., 1964, 1, 82—95.
Александров И. С. Физиол. журн. СССР, 1951, 1, 64—68.
Алексеев В. С. Физиол. журн. СССР, 1957, 43, 9.
Алексеева О. Г. Гиг. труда и проф. заболевания, 1965, 11, 20.
Алексеева О. Г. В кн.: Проблемы космической биологии, 1965, 4, 290.
Алексеева О. Г. Гиг. и сан., 1964, 11, 99.
Алексеева О. Г., Волкова А. П. Гиг. и сан., 1966, 8, 70.
Алексеева О. Г., Волкова А. П. В кн.: Проблемы космической биологии. М., 1962, в. 1, с. 181.
Алексеева А. М., Тимофеева Н. М. Вопр. мед. химии, 1959, 5, 1, 48—53.
Алексеева М. С., Федоров В. К. Журн. высш. нерв. деят., 1963, 2, 13, 326—329.
Алексеев Т. И., Глебович О. В. Клин. мед., 1952, XXX, 68—74.
Алексеева Н. П., Дружинина В. А., Тугаринова В. Н. Тезисы докладов конференции молодых научных работников. М., 1959, 34—35.
Алексеенко Н. Ю., Гасанов У. Г. Журн. высш. нервн. деят., 1961, 1, т. 11, 186—189.
Алешин М. Т., Иевлева Е. А. Вестн. дерматол. и венерол., 1964, 6, 29.
Алимов Р. А. Мед. журн. Узбекистана, 1960, 3, 21.
Алимов Р. А. Лабор. дело, 1963, 4, стр. 44—46.
Альперн Д. Е. Патологическая физиология. М., 1965.
Амиров Р З. Тезисы докладов семинара «Развитие физиологического приборостроения для научных исследований в биологии и медицине». М., 1966, с. 106—107.
Ананьев В. А., Обухова В. Р. Вопр. вирусол., 1958, 2, 119.
Андрианов Л. А., Шабад Л. М. В сб.: Фармакология и токсикология. Итоги науки, 1966.

Анкудинова И. А., Тугаринова В. Н. и др. Сообщение 2. В сб.: Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов, 1967, ч. 2, 202.
Анненков Г.А. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1957, 4, 20.
Аничков С. В. Журн. высш. нерв. деят., 1962, 12, 3, 391—398.
Анохин П. К. Труды физиологической лаборатории им. И. П. Павлова, 1941, т. 10, с. 163.
Анохин П. К. Электроэнцефалографический анализ условного рефлекса. М., 1958.
Арбузов А. И. Тезисы докладов научной сессии Медицинского института. Фрунзе, 1954, с. 24—26.
Арзамасцев Е. В. В сб.: Материалы конференции по итогам научных исследований Института общей и коммунальной гигиены АМН СССР. М., 1965, с. 39—40.
Арзяева Е. Я. Гиг. н сан., 1966, 31, 3, 24.
Арсеньева М. А., Головкина А. В. В кн.: Влияние ионизирующих излучений на наследственность. М., 1966, с. 122—130.
Асратян Э. А. Физиология центральной нервной системы (научные работы). М., 1953.
Астанин Л. П. Органы тела млекопитающих и их работа. М., 1958.
Атаев М. М., Глушкова В. В. Журн. высш. нервн. деят., 1964, т. 14, с. 1032—1041.
Атаханов Э. И. Клин. мед., 1952, 1, 42—47.
Атякина И. К. Гиг. и сан., 1959, 10, 26.
Ауэрбах Ш. Генетика в атомном веке. М., 1959.
Ауэрбах Ш. Генетика, 1966, 1, 3—11.
Ашбель С. И., Столпецкая Н. Г. и др. Врач. дело., 1952, 4, 343.
Бабаджанян М. Г. Гиг. труда и проф. заболевания, 1959, 2, 53—54.
Баев А. А. В кн.: Фосфорилирование и функция. Л., 1960.
Барков Н. К., Криволапов В. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1965, 5, т. 59, 117.
Бартенев В. Д., Коварский М. Е. Гиг. труда и проф. заболевания, 1964, 8, 57—58.
Беджер Г. М. Химические основы канцерогенной активности. Перевод с англ. М., 1966.
Бентли М. Промышленная гидропоника. М., 1965.
Беленков Н. Ю., Сосенков В. А., Ульянов М. Ю. Материалы 2-й Поволжской конференции фнзиологов, биохимиков и фармакологов. Казань, 1961, с. 55.
Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.
Беленький Е. Е., Закс А. С., Ивановская Т. В. Тезисы и автореферат докладов 3-й Уральской конференции фнзиологов, биохимиков и фармакологов, посвященный 40-летию Удмуртской АССР. Ижевск, 1960, с. 165—167.
Белов Д. М., Крылов С. С., Снегерев Е. А. Журн. высш. нервн. деят., 1962, 5, 12, 969—974.
Бессонова Е. М. Лабор. дело, 1959, 3, 9—10.
Бизяева П. С. Сов. мед., 1948, 8, 38.
Блюгер А. Ф.. Беленький М. Л., Шустер Я. Я. Вопр. мед. химии, 1964, 10, 1.
Боговский П. А. Профессиональные опухоли кожи, вызываемые продуктами переработки горючих ископаемых. М., 1960.

Бодяжина В. И. Акуш. и гин., 1964, 5, 26—30.
Бойланд Е. Определенне канцерогенной активностн. Современные проблемы онкологии, 1957, 5, 45—49.
Бондаренко Б. Б. Пат. фнзиол. и экспер. тер., 1965, 3, 84.
Борисова М. К. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1960, 4, 61.
Боровская Д. П., Ровинская С. Д. Клин. мед., 1948, 26, 4, 88.
Боченкова Т. Д. Материалы XXI Московской городской научно-практической конференции по промышленной гигиене, 1965, 50.
Браше Ж. Биохимическая цитология. М., 1957.
Браше Ж. Биохимическая эмбриология. М., 1961.
Брейвис Л.В. Биофнзика, 1959, 3, 364.
Брогден В. Д. В кн.: Экспериментальная психология. М., 1963, т. 2, с. 66—113.
Бронштейн А. И. Вкус и обоняние. М.—Л., 1950.
Бройтман А. Я. Гиг. труда и проф. заболевания, 1962, 3, 20—26.
Бройтман А. Я., Данишевский С. Л., Робачевская Е. Г. В кн.: Токсикология высокомолекулярных материалов и химического сырья для их синтеза. М., 1966.
Брускин З. З. Гиг. труда и проф. заболевания, 1965, 10, 7.
Буглов Е. Д. Пат. физиол. и экспер. тер., 1959, 3, 6, 73—74.
Булавинцева А. И. и др. Физиол. журн. СССР, 1952, 3, 362—364.
Буркацкая Е. Н. Тезисы докладов научной сессии, посвященной вопросам медицинского обслуживання рабочих химической промышленности. Горький, 1959, с. 83.
Бухтияров А. Г. и соавторы. Методика изучения условнорефлекторной деятельности белых крыс при хроническом действии малых пороговых концентраций яда. М., 1960.
Буштуева К. А. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1957, в. 3, с. 23.
Буштуева К. А., Полежаев Е. Ф., Семененко А. Д. Гиг. и сан., 1960, 1, 57.
Вайль С. С. Руководство по патологогистологической техннке. М., 1947.
Вайсфельд Л. И. В сб.: Экспериментальный мутагенез животных, растений и микроорганизмов. Тезнсы докладов симпозиума АН СССР 25—30 марта, 1965, с. 26.
Вебер Дж. В кн.: Успехи в изучении рака. М., 1964, 6, 162—261.
Ведров Н. С. Сов. вестник венерол. и дерматол., 1933, 6, 380—381.
Ведяев Ф. П. В кн.: проблемы физиологии и патологии высшей нервной деятельности. Л., 1963, в. 2, с. 61—74.
Веселкин П. Н. Физиол. журн. СССР, 1955, 1, 108—112.
Вейсман Н. М. Тер. арх., 1926, 1, 15.
Вигдорчик Н. А. В кн.: Труды юбилейной научной сессии Ин-та гигиены труда и профзаболеваний. Изд. Ин-та гигиены труда и профзаболеваний. Ленгорздравотдела. Л., 1940, с. 202—213.
Вознесенский Б. Б., Суворов С. В., Томилина Л. А. В сб.: Химнческие факторы внешней среды и их гигиеническое значение. М., 1965, с. 25—27.
Волкова А. П. Гиг. и сан., 1959, 1, 80.
Волкова А. П. Материалы XXI Московской городской научно-практнческой конференции по промышленной гигиене, 1965, 34.
Волкова З. А. Гиг. труда и проф. заболевания, 1958, 4, 30—36.
Волкова З. А. Гиг. труда и проф. заболевания, 1965, 8, 19—24.
Волкова А. П., Тернов В. И. Лабор. дело, 1965, 12, 712.

Вольберг Н. Ш., Голубев А. А. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 12, 49—50.
Воронин А. Г. 2-е научное совещание по проблемам эволюции в физиологии (тезисы докладов). Л., 1959, с. 55—57.
Временные методические указания к обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) аэрозолей (пыли и дыма) фиброгенного действия. М., 1965.
Временная инструкция по установлению расчетным способом ориентировочных предельно допустимых концентраций летучих органических веществ в воздухе рабочих помещений. Л., 1961.
Временные методические указания к постановке экспериментальных исследований для обоснования предельно допустимых концентраций вредных веществ в воздухе производственных помещений. Гиг. труда и проф. заболевания, 1964, № 2, № 9
Вул И. М., Уфлянд Ю. М. Физиол. журн. СССР, 1939, 1, 23.
Гадаскина И. Д. Бюлл, экспер. биол. и мед., 1941, т. 12, 1/2, 7—8, 90—92.
Гадаскина И. Д. Фармакол. и токсикол., 1946, 9, 1, 51—53.
Гадаскина И. Д. Материалы научной сессии, посвященной 40-летию Института гиг. труда и проф. забол. , 24—26 ноября. Л., 1964, с. 43—45.
Гадаскина И. Д., Люблина Е. И. и др. Гиг. труда и проф. заболевания, 1961, 11, 13.
Гальперин С. И., Осипов Б. С. В кн.: Физиологические основы сложных форм поведения. М.—Л., 1963, с. 41—43.
Гаркави П. Г., Степанова Н. Г. и др. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1966, в. 8.
Гасанов У. Г. Пат. физиол. и экспер. тер., 1957, 6, 12.
Гасто Г. В. В кн.: Ретикулярная формация мозга. М., 1962, с. 495—510.
Гершанович М. Я. В кн.: Воспроизведение заболеваний животных для экспериментальных терапевтических исследований. Л., 1954, с. 26.
Гильденскиольд Р. С. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1962, в. 4, с. 49.
Гистохимические методы в нормальной и патологической морфологии. Сб. под ред. В. В. Португалова и А. И. Струкова. М., 1958.
Глумов Г. М. Материалы 14-й конференции физиологов Юга РСФСР. Краснодар, 1962, с. 66—67.
Голиков С. Н., Розенгарт В. И. Холинэстеразы и антихолинэстеразные вещества. Изд. «Медицина». Л., 1964, с. 1—381.
Головщикова И. Н. Материал по токсичности радиоактивных веществ. М., 1960, в. 2, с. 121.
Голубев А. А. Труды научной сессии Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний, посвященной итогам работы за 1956 г. Л., 1958, с. 231—237.
Голубев А. А. Третья научная сессия Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний по итогам работ за 1957 г. Л., 1959, с. 146—153.
Гольдберг Л. Педиатрия, 1947, 5, 135—136.
Гольдин А. С. Основы гистологической техники электронной микроскопии, М., 1963.
Горн Л. Э. Фармакол. и токсикол., 1951, 4, 37—40.
Городенская Е. Н. Труды АМН СССР. Силикоз. М., 1951, XVII, 12.
Григорьев З. Э. Фармакол. и токсикол., 1955, 4, 49—52.
Давыдова Э. В. Труды Украинского государственного института патологии и гигиены труда, 1928, в. 6, с. 130.
Дашням П. Фармакол. и токсикол., 1958. 4, 46—51.

Движков П. П. Пневмокониозы. Этиология, патологическая анатомия, патогенез. М., 1965.
Деев М. М. Тезисы заключительного семинара «Развитие физиологического приборостроения для научных исследований в биологии и медицине». М., 1966, с. 84.
Дервиз Г. В. В кн.: Гипоксия. Киев, 1949.
Дервиз Г. В., Воробьев А. И. Лабор. дело., 1959, 3, 3—8.
Дервиз Г. В., Смидович В. Н. Лабор. дело, 1957, 5, 8.
Дехтярь Г. Я. Электрокардиографическая диагностика. М., 1966.
Диковинова Н. В. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1957, 44, 9, 102—105.
Джаксон И. М. Физиол. журн. СССР, 1963, 49, 1, 127—129.
Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М., 1961, с. 1—728.
Дикун П. П. В кн.: под ред. Н. В. Лазарева «Введение в геогигиену». Изд. «Наука». М.—Л., 1966.
Дикун П. П. Вопр. онкол., 1955, 1, 5, 24—29.
Дмитриева Н. В. XXI Московская научно-практическая конференция по промышленной гигиене. М., 1965.
Дмитриев Ю. С. 10-й съезд Всесоюзного физиологического общества им. Павлова. М.—Л., 1964, в. 1, т. 2, с. 273—274.
Долгов А. П. БМЭ. Изд. 2-е. М., 1956, т. 1, с. 783—784.
Долгов А. П. В кн.: Работы 1-й Всесоюзной конференции врачей дермато-венерологов 17—21 июня 1951. М., 1958, с. 214—219.
Дуань Фын-жуй. Гиг. и сан., 1959, 10, 12—17.
Дубинин Н. П., Ваулин Е. П., Сапрыкина Е. Г. В кн.: Влияние ионизирующего излучения на наследственность. М., 1966, с. 46—61.
Дуева Л. А. Материалы XXI Московской городской научно-практической конференции по промышленной гигиене, 1965, с. 17.
Дурмишьян М. Г. (ред.). Реакция организма на действие малых доз ионизирующей радиации. М., 1960.
Дыбан А. П. Очерки патологической эмбриологии человека. Л. Медгиз, 1959.
Евдокимов С. А., Семенов Г. Н., Соколов Г. Н. и др. Физиол. журн. СССР, 1961, 4, 47, 522—524.
Евтушенко Г. Ю. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 10.
Егоров А. П., Берман Л., Кольцова Т. Лабораторная практика, 1940, 2—3, 14—15.
Егоров А. П. Клетки крови. М., Медгиз, 1951.
Егорова Г. М., Иванов Н. Г., Саноцкий И. В. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1966, 8, 33.
Елизарова О. Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении. М., 1962.
Елисеев В. Г. Гистология, М., 1963.
Ефимова Е. В. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1962, в. 6, 31.
Епифанов О. И. Гормоны и размножение. М., 1965.
Ерошкина А. М. Лабор. дело, 1958, 4, 20.
Ерусалимская С. М. Врач. дело, 1963, 9, 132—133.
Жеданов В. И. Легкие и сердце животных и человека, М., 1954.
Жданов Г. Л. В сб.: Модели и методы экспериментальной онкологии, 1960.
Жилова Н. А. Гиг. и сан., 1959, 12, 18.
Заева Г. Н. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1964, 6, 165—180.

Заева Г. Н. В кн.: Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1965, 96—103.
Заева Г. Н. с соавторами. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1966, в. 8, с. 41—60.
Заева Г. Н., Толгская М. С. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1965, 7, с. 138—157.
Заева Г. Н., Тимофеевская Л. А. и др. Материалы научной конференции, посвященной вопросам гигиены труда, промышленной токсикологии и профессиональной патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. Баку, 1966, с. 178—179, 198.
Зак К. П., Науменко Н. И. Лабор. дело, 1962, 3, 12—16.
Закржевский Е. Б., Васильева Л. Г. Люминесцентная микроскопия в клинико-гематологических исследованиях. М., 1963.
Закусов В. В. Физиол. журн. СССР, 1937, 23, 2, 276—278.
Закусов В. В. Сб. работ токсикологической лаборатории Ленинградского института гигиены труда и проф. заболеваний, 1938, 2, 5—28.
Закусов В. В. Фармакол. и токсикол., 1950, 5, 9—13.
Закусов В. В. Фармакология нервной системы. Л., 1953.
Закутинский Д. И., Парфенов Ю. *Д., Селиванова Л. Н.* Справочник по токсикологии радиоактивных изотопов. М., 1962.
Западнюк И. П. и др. Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте. Киев, 1962.
Запускалов В. И., Шмидт Б. Н. Врач. дело, 1955, 9, 877—878.
Зарецкий И. И. Клиническая физиология и методы функциональной диагностики почек. М., 1963.
Зачиняева И. А. Труды I Московского медицинского института. М., 1961, т. II, с. 318—327.
Збарский Б. И., Збарский И. Б., Солнцев А. И. Практикум по биологической химии. М., 1962, с. 222.
Збарский Б. И., Иванов И. И., Мардашев С. Р. Биологическая химия. М.,1965.
Здродовский П. Ф. Проблемы инфекции иммунитета и аллергии. М., 1963.
Зевальд Р. Г. Журн. высш. нервн. деят., 1963, 3, 13, 465—473.
Зильбер Л. А. Основы иммунологии. М., 1958,
Злобина Н. С. Гиг. и сан., 1963, 5, 29.
Злобина Н. С. Автореф. дисс. канд. М., 1964.
Золотницкая Р. П. Лабор. дело, 1965, 5, 264—265.
Иваницкий А. М. Пат. физиол. и экспер. тер., 1961, 5, 1, 69—70.
Иванов А. А. Гиг. и сан., 1965, 12, 51.
Иванов И. И. Биохимия, 1937, 2, 7, 926—934.
Иванов Н. Г., Толгская М. С. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1964, в. 6, с. 61—72.
Иевлева Е. А. Вестн. дерматол. и венерол., 1962, 3, 83.
Изралимский А. С., Гуляева М. В. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1953, 3, 32.
Израэльсон З. И. (ред.) Токсикология редких металлов. М., 1963.
Ильинская И. В. В кн.: Актуальные вопросы переливания крови. Л., 1958, 6, 306—309.
Исаакян Л. А. В сб.: Опыт изучения регуляций физиологических функций в естественных условиях существования организмов. М.—Л., 1953, т. 2, 20.
Исаченко В. В. В кн.: Исследование в области промышленной токсикологии. Л., 1940, с. 207—214.

Каган Г. З. Материалы 2-й научной конференции проблемной комиссии гигиенич. кафедр. М., 1965, с. 125—127.
Каган Ю. С. Токсикология фосфорорганических инсектицидов и гигиена труда при их применении. Киев, 1963.
Каган Ю. С. В сб.: Фармакология и токсикология. Киев, 1964, с. 231.
Каган Ю. С. В сб.: Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1965. с. 46.
Каган Ю. С., Станкевич В. В. В сб.: Актуальные вопросы гигиены труда, промышленной токсикологии и проф. патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности, 1964.
Каган Ю. С., Люблина Е, И., Саноцкий И. В. и др. Тезисы докладов XXI Всесоюзного съезда гигиенистов и санитарных врачей. Киев, 1968.
Калинина М. К., Цобкалло Г. И. Труды Института физиологии им. И. П. Павлова, 1962, т. 10, с. 35—40.
Камальдинова З. М., Саноцкий И. В. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1961, в. 2, с. 105—115.
Каменкова В. В., Жаманов Б. К. В кн.: Конференция молодых научных работников (тезисы докладов). М., 1965, с. 23—24.
Канаревская А. А. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1962, в. 4, с. 167.
Капкаев З. А. Автореф. дисс. канд. М., 1964.
Карасик В. М. В кн.: Труды Всесоюзного института экспериментальной медицины. Л., 1934, в. I, с. 199—200.
Карасик В. М. Успехи совр. биол., 1944, 17, 1, 71.
Карпов Б. Д. Гиг. и сан., 1957, 4, 74—76.
Кассирский Т. И. Лабор. дело, 1955, 5, 25—27.
Кассирский И. А., Алексеев Г. А. Клиническая гематология. М., 1962.
Кацнельсон Б. А., Величковский Б. Т. Гиг. и сан., 1963, 9, 88.
Кацнельсон Б. А., Бабушкина Л. Г., Величковский В. С. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1964, 6, 18.
Качанов М. М. Гиг. труда и проф. заболевания, 1958, 6, 25—31.
Качурина Н. А., Тиунов Л. А. Успехи совр. биол., 1965, 1.
Кекчеев К. Х., Матюшенко О. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1937, 2, 5358.
Керкис Ю. Я., Столбова Н. Г. Генетика, 1966, 9, 170—172.
Клемпарская Н. Н., Алексеева О. Г. Мед. радиол., 1959, 3, 70.
Кленова Е. В. Гиг. и сан., 1949, 2, с. 27.
Климов П. К., Щеглова А. И. Рефераты докладов к III Всесоюзному совещанию по экономической физиологии, биохимии и морфологии. Новосибирск, 1967, с. 47.
Клинская К. С. Тезисы докладов 5-й Ленинградской конференции по вопросам промышленной токсикологии. Л., 1957, с. 85.
Ковальчук С. И. Фармакол. и токсикол., 1964, 27, 6, 743.
Ковалевский К. Л. Лабораторное животноводство. М., 1958.
Коган А. Х. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1959, 48, 10, 109—113.
Кожевников В. А. Физиол. журн. СССР, 1955, 41, 2, 195.
Козлова Т. А., Волкова А. П. Гиг. и сан., 1960, 1, 29.
Кокорина Э. П. Журн. высш. нервн. деят., 1963, 2, 13, 361—370.
Колесников М. С., Гиршбаум П. С., Миронова Т. М. Труды Института физиологии АН БССР, 1959, т. 3, с. 49—54.
Кольцов Н. К. Биохимический журнал. Л., 1938, 7, с. 3.
Кондрашова М. Н. Биохимия, 1965, т. 30, стр. 567.
Коников А. Л. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1941, 4, II, 364—367.

Конради Г. П., Слоним А. Д. и др. Физиология труда. М.—Л., 1955.
Корбакова А. И., Федорова В. И. В кн.: Токсикология новых промышленных химич. веществ, 1962, 4, 134—144.
Кореневская Т. А. Гиг. и сан., 1955, 9, 19—24.
Корнильев В. П., Королевский А. П. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1963, 7, 56, 113—116.
Коровкин Б. Ф. Ферменты в диагностике инфаркта миокарда. Л. Изд. «Медицина», 1965, с. 1—128.
Котляр Б. И., Калюжный Л. В. Научные доклады высшей школы биологической науки, 1964, № 4, с. 56—60.
Котляревский Л. И. Журн. высш. нерв. деят., 1951, 5, 1.
Котовщикова А. М., Блексмит З. Д. Пробл. гематол. и перелив. крови, 1957, 3, 53—55.
Котон Е. А., Данилова Т. Н. Материалы научной сессии Государ. научно-исслед. ин-та гигиены труда и профзаболеваний. Л., 1963, с. 33.
Кравков С. В. Физиол. журн. СССР, 1940, 28, 4, 313.
Кравков С. В. Взаимодействие органов чувств. Изд. АН СССР, 1948, с. 19.
Крапивинцев П. Н. Сов. вестн. венерол. и дерматол., 1936, 8—9, 743.
Красовский И. И. Клин. мед., 1953, 31, 5, 81—85.
Красовский Г. Н., Миклашевский В. Е., Тугаринова В. Н. В сб.: Объединенная научно-методическая конференция, посвященная памяти проф. С. И. Чечулина. М., 1963, с. 130.
Красовский Г. Н. В сб.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1965, в. 7, с. 247.
Красовский Г. Н., Анохин В. Л. и др. Материалы конференции гигиенических кафедр I Московского медицинского института им. И. М. Сеченова. М., 1967, с. 181.
Кратин Ю. Г., Бехтерева Н. П. и др. Техника и методики электроэнцефалографии. М.—Л., 1963.
Кремнева С. Н. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1961, в. 1, с. 35—41.
Кривошей В. А. Программа и доклады 5-й научной конференции рационализаторов и изобретателей. Харьков, 1963, с. 26—27.
Кривошей В. А. В сб.: Вопросы гигиены и эпидемиологии Донбасса. Донецк, 1965, с. 40.
Крыжановская М. В., Рахов Г. И. и др. Гиг. и сан., 1966, 3, 8.
Кудакова Н. А. Лекарства для инъекций. М., 1956.
Кулагина Н. К., Корбакова А. И. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1961, в. 3, с. 81—101.
Кулаков А. Е. Гиг. и сан., 1965, 5, 15.
Кулаков А. Е. В сб.: Биологическое действие и гигиеническое значение атмосферных загрязнений. М., 1966, в. 1.
Кундиев Ю. И. В кн.: Гигиена и токсикология новых пестицидов и клиника отравлений. М., 1962, с. 206.
Кундиев Ю. И. Фармакол. и токсикол., 1963, 3, 361.
Кундиев Ю. И. Гиг. труда и проф. заболевания, 1964, 2, 24.
Купалов П. С., Гент В. Х. Труды физиологической лаборатории им. И. П. Павлова, 1952, 1—2, 2, 127.
Курляндская Э. Б., Саноцкий И. В. Гиг. труда и проф. заболевания, 1965, 3, 3.
Кустов В. В., Михайлов В. М. и др. В сб.: Промышленная токсикология и клиника проф. заболеваний химической этиологии М., 1962, с. 40.

Кустов В. В., Михайлов В. И. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 3, 6—9.
Лазарев Н. В. Основы промышленной токсикологии. М., 1938.
Лазарев Н. В. (ред.) Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. Л., 1954, с. 234.
Лазарев Н. В. Вредные вещества в промышленности 1954, 1, 430.
Лазарев Н. В. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 3, 6.
Лазарев Н. В., Напалков Н. П. Гиг. труда и проф. заболевания, 1962, 6, 5—10.
Лазарев П. П. Журнал прикладкой химии, 1929, в. 6.
Лазарев П. П. Клин. мед., 1936, 14, 1, 3—21.
Лапик Л. Физиол. журн. СССР, 1935, 19, 227—241.
Лапик Л. Физиол. журн. СССР, 1936, 21, 1059—1068.
Ларионов Л. Ф., Гришко В. А. В кн.: Современные проблемы фармакологии. Ученые записки Института фармакологии и химиотерапии АМН СССР. М., 1963, т. III, с. 358.
Латушкина В. Б. Гиг. и сан., 1956, 8, 18—24.
Латушкина В. Б. Сборник научных работ институтов охраны труда ВЦСПС, 1959, № 1, с. 37.
Лебедев К. В. Журн. высш. нервн. деят., 1961, I, II, 190—192.
Левина Э. Н. Гиг. и санит., 1959, 2, 35.
Лейп-Петтер У. Обеспечение научных исследований лабораторными животными, 1964.
Летавет А. А. В кн.: Промышленая токсикология и клиника профессиональных заболеваний химической этиологии. М., 1962.
Лившиц Н. Н. Журн. высш. нерв. деят., 1960, 5, 10, 792—799.
Лившиц Л. Я., Рубин В. И. Лабор. дело, 3,17, 1961.
Линник А. Б. Вопр. онкол., 1964, 10, 4, 100—109.
Ли Шэн. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1963, в. 7, с. 32.
Лобанова Е. А. Тезисы докладов научной конференции Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР. Гигиена труда и биологическое действие электромагнитных волн радиочастот, 1959, с. 46—47.
Лобановский Г. И. Вестн. дерматол. и венерол., 1964, 6, 21.
Логинова Р. А. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1957, в. 3, с. 63.
Лойт А. О. Скоростной метод определения токсичности. Информационное письмо. Ленинградский институт гигиены труда и профзаболеваний, 1964.
Лосев Н. И., Миклашевский В. Е. В сб.: Объединенная научно-методическая конференция, посвященная памяти проф. С. И.Чечулина. Материалы работ. М., 1963.
Лукомская Н. Я. Физиологическая роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных веществ. Л., 1957, с. 65—73.
Любимова-Герасимова Р. М. Гиг. труда и профзаболевания, 1968, 4, 54—55.
Люблина Е. И. Труды Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний, 1948, т. 12, с. 51—65.
Люблина Е. И. Тезисы докладов V Ленинградской конференции по вопросам промышленной токсикологии. Л., 1957, с. 33—36.
Люблина Е. И. Физиол. журн. СССР, 1957а, 9, 903—905.
Люблина Е. И. Гиг. труда и профзаболевания, 1958, 2, 42—47.
Люблина Е. И. В сб.: Гигиена, токсикология и клиника новых инсектофунгицидов. Труды I Всесоюзной научной конференции по ги-

гиене и токсикологии инсектофунгицидов 25—29 июня, 1957 (Киев). М., 1959, с. 50—59.
Люблина Е. И. Материалы научной сессии, посвященной итогам работы Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний за 1961—1962 гг. Л., 1963.
Люблина Е. И., Голубев А. А. Гиг. труда и профзаболевания, 1962, 4, 26—31.
Люблина Е. И., Филов В. А. Вопросы общей и частной промышленной токсикологии. 1965, с. 7—14.
Люблина Е. И., Филов В. А. Материалы научной конференции, посвященной вопросам гигиены труда, промышленной токсикологии и профпатологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. Баку, 1966, с. 131—132.
Люблина Е. И., Голубев А. А., Филов В. А. В кн.: Фармакология, токсикология. М., 1967, с. 11.
Мошков Б. С. Выращивание растений при искусственном освещении. М.—Л., 1955.
Майоров Ф. П. История учения об условных рефлексах. М.—Л., 1955.
Макаров П. О. Сов. невропатол., психиатр., психогиг., 1934, 3, 116.
Макаров П. О. Труды 1-й конференции по физиологической оптике. Л., 1936, 247, 363.
Макаров П. О. Арх. биол. науки, 1940, 1, 10, 60.
Макаров П. О. Проблемы микрофизиологии нервной системы. М., 1947.
Макаров П. О. Нейродинамика зрительной системы человека. Л., 1952.
Макарычев А. И. Закон силы в учении о высшей нервной деятельности. М., 1947.
Макашев К. К. Труды Института Краевой патологии АН Казахской ССР, 1956, т. 4, с. 34.
Максимов Г. Г. В кн.: Гигиена труда и охрана здоровья рабочих в нефтяной и нефтехимической промышленности. Уфа, 1967, т. 4.
Максимов Г. Г. Гигиена труда и профзабол., 1969, 7.
Малашенко А. М., Егоров И. К. Генетика, 1967, 3, 59—67.
Малиновский О. В. Физиол. журн. СССР, 1952, 5, 637—639.
Малышко А. Н., Симонов П. В. Тезисы и рефераты докладов (20-е совещание по проблемам высшей нервной деятельности). М.—Л., 1963, с. 160—161.
Маневич Э. Д. В сб.: Итоги науки. Фармакол. и токсикол. М.,1966, 7, 82.
Марголина П. Т., Лютровник Б. В. Лабор дело, 1958, 4, 15—18.
Мардашев С. Р., Буробин В. А. Вопр. мед. химии, 1962, 8, 3, 320.
Мардашев С. Р., Буробин В. А. Вопр. мед. химии, 1963, 9, 1, 93.
Марков Д. А. Хронаксиметрия в клинике. Минск, 1956.
Марченко Е. Н. Гиг. труда и профзаболевания. 1966, 11/12.
Маркарян Д. С. Автореф. дисс. канд. М., 1966.
Маршак М. Е. Регуляция дыхания у человека. М., 1961.
Маховко В. В., Панин Ю. В. Материалы Симпозиума по клинике и регенерации желез внутренней секреции (17—18 января 1962 г.). М., с. 14—16.
Машковский М. Д. Фармакол. и токсикол., 1943, 1, 1, 32—35.
Медведев Н. Н. Линейные мыши, 1964.
Медведев Н. Н. Практическая генетика. М., 1966.
Мелик-Алавердян Н. О. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1964, т. 6а, 107—110.

Мельникова Е. А. Гиг. и сан., 1957, 3, 27—31.
Мельникова Л. В. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1966, в. 8, с. 126.
Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. М., 1961.
Мешалова А. Н. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1959, 9, 104.
Мешкова Н. Н., Северин С. Е. Практикум по биохимии животных. М., 1950.
Миклашевский В. Е., Тугаринова В. Н., Скобцова Г. Г. В сб.: Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов, 1967, ч. III, с. 266.
Миклашевский В. Е., Тугаринова В. Н. В сб.: Итоговая конференция гигиенических кафедр I МОЛМИ. Тезисы докладов, 1962, с. 33.
Миклашевский В. Е., Тугаринова В. Н. и др. В сб.: Промышленное загрязнение водоемов, 1967, в. 8, с. 272.
Милованов В. К. Биология воспроизведения и искусственного осеменения животных. М., 1962.
Минкина Н. А. В сб.: Гигиена и токсикология новых пестицидов и клиника отравлений. М., 1962, с. 46.
Минкина Н. А., Русин В. Я. В сб.: Вопросы общей и частной промышленной токсикологии. Л., 1965, с. 92.
Митина Л. С. Гиг. и сан., 1962, 10, 3.
Мозгов И. Е. Ветеринарная рецептура. М., 1956.
Мохин К. М. Методика регистрации ЭКГ у мелких грызунов. Реферативный журнал «Биология», 1959, 6, 264.
Мошковский Ш. Д. Медицинская паразитология и паразитарные болезни, 1936, 5, 5, 713.
Мусящикова С. С. Изв. АН СССР, 1950, I, 107.
Мусящикова С. С. В сб.: Вопросы физиологической интерорецепции, 1952, в. 1, с. I.
Мухаметова Г. М. Гиг. и сан., 1966, 1, 106.
Мухитов Б. В. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1963, в. 7, с. 76.
Мытарева Л. В. Мед. радиол., 1956, № 1, 35.
Навакатикян А. О. Физиол. журн. СССР, 1954, 40, 6, 756—765.
Навроцкий В. К. Гиг. труда и проф. заболевания, 1957, 2, 12.
Навроцкий В. К. Вестн. АМН СССР, 1960, 3, 57.
Навроцкий В. К. Гиг. и сан., 1965, 12, 76.
Навроцкий В. К., Тарнопольская М. М. и др. Вестн. АМН СССР, 1963, 8, 32.
Напалков А. В., Веревкина Г. Л., Штильман Е. В. 2-е научное совещание по проблемам эволюции, физиологии. Тезисы докладов. Л., 1959, с. 120—122.
Насонов Д. Н., Розенталь Д. Л. Физиол. журн. СССР, 1953, 4, 405—422.
Наумова О. А. Вопросы токсикологии и патофизиологии. В кн.: Ученые записки Института санитарии и гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана. М., 1960, 3, 60—61.
Нейландс Дж., Штумпф П. Очерки по химии ферментов. М., 1958, с. 1—391.
Нестеров А. И. Физиол. журн. СССР, 1957, т. 143, 10, 997—1000.
Никитенко Т. К. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1966, в. 8.
Никитин В. Н. Гематологический атлас сельскохозяйственных и лабораторных животных. М., 1956.

Никульцева А. А. Гиг. труда и проф. заболевания, 1967, 12, 41.
Новак Л. Физиол. журн. СССР, 1959, 4, 494—496.
Нуждин Н. Н., Шапиро Н. М. и др. Общая биология, 1959, т. 20, № 3, с. 216—229.
Образцова Г. А. Труды Института физиологии АН СССР им. И. П. Павлова, 1953, с. 411—417.
Одошашвили Д. Г. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1963, в. 7, с. 52.
Окишев Ф. Р. Лабораторная практика, 1932, 6, 7.
Ольнянская Р. П. и *Исаакян Л. А.* Методы исследования газового обмена у человека и животных. М., 1959.
Олюнин И. В. Труды научной сессии Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний, посвященной итогам работы за 1956 г. Л., 1958, с. 206—210.
Омарова В. А. Пат. физиол. и экспер. тер., 1958, 4, 52.
Онегов А. П. Гигиена сельскохозяйственных животных. М., 1963.
Осина Т. М. Труды научной сессии Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний, посвященной итогам работы за 1958 г. Л., 1959, с. 256—261.
Охнянская Л. Г. (ред.) Клинико-физиологические исследования нервной системы при профессиональных заболеваниях. М., 1967.
Оценка канцерогенной опасности веществ, добавляемых к пищевым продуктам. 5-й доклад Объединенного экспертного комитета ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам. Женева, 1961.
Павельски С., Заводски З. Физиологические константы в клинике внутренних болезней. М., 1964.
Павленко С. М. Тезисы и рефераты докладов. 20-е совещание по проблемам высшей нервной деятельности. М.—Л., 1963, с. 182.
Павлов И. П. Лекции о работе больших полушарий головного мозга. Полное собрание трудов, 1947, т. IV.
Павлов С. Т. Вестник дерматол. и венерол., 1955, 1, 3.
Парибок В. П. Фармакол. и токсикол., 1954, 17, 52—53.
Пахомычев А. И. Гиг. и сан., 1960, 11, 77.
Пельц Д. Г. Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол., 1958, 10, 70.
Пельц Д. Г. Гиг. и сан., 1962, 7, 96.
Першин Г. Н. Фармакол. и токсикол., 1950, 3, XIII, 53.
Петров-Маслаков М. А. Сов. мед., 1964, 4, 13—18.
Петрунь Н. М. Газообмен через кожу и его значение для организма человека. М., 1960.
Петрунькина А. М. Практическая биохимия. М., 1961.
Пидемский Е. Д., Быкова А. А., Зенкова Г. В. В сб.: Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов. Ч. III. М., 1967, с. 259.
Пиз Д. Гистологическая техника в электронной микроскопии. М., 1963.
Пик Ц. Д. Силикоз и его профилактика в горнорудной промышленности М., 1949.
Пик Ц. Д. и *Тайц.* Гигиена безопасности и патологии труда, 1931, 6.
Плисс Г. Б. Механизмы канцерогенеза. М., 1965.
Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
Плотникова М. М. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1960, в. 4, с. 75.
Подкопаев Н. А. Методика изучения условных рефлексов. М., 1952, с. 83—179.
Покровский А. А. Вопр. мед. химии., 1960, 6, 3, 228.

Покровский А. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1961, 6, 99.
Покровский А. А. В кн.: Химические основы процессов жизнедеятельности. М., 1962, с. 291—311.
Покровский А. А. В кн.: Успехи биол. химии. М., 1962а, 4, 61—81.
Покровский А. А. В сб.: Вопросы энзимопатологии. Калининский медицинский институт. М., 1964, с. 29—38.
Пол Дж. Культура клеток и тканей. М., 1963.
Поливанная М. Ф. Сб. Научно-исследовательского института физиологии животных, 1953, 7, 25—35.
Поливанная М. Ф. Головной мозг и регуляция функций. Киев, 1963, с. 35—37.
Понугаева А. Г. В сб.: Опыт изучения регуляций физиологических функций в естественных условиях существования организмов. М.—Л., 1953, т. 2.
Попов Н. Н., Черкасов Е. Ф., Трахтман О. М. Гиг. и сан., 1952, 5, 16—20.
Попов Т. А., Эпштейн И. М., Березин И. П. Гиг. и сан., 1966, 9, 67.
Правдин Н. С. В кн.: Оценка сравнительной токсичности химических веществ. М., 1933.
Правдин Н. С. Руководство промышленной токсикологии. М., 1934, в. 1.
Правдин Н. С. Методика малой токсикологии промышленных ядов. М., 1947.
Правдин Н. С. Сб. Вопросы промышленной токсикологии. М., 1960, 7.
Предтеченский В. Е. Руководство по клиническим и лабораторным исследованиям, 1960.
Прозоровский В. Б. Журнал общей биологии, 1960, XXI, 3, 221.
Прозоровский В. Б. Фармакол. и токсикол., 1962, 1, 115.
Прокофьева А. К. Безопасность труда при работе с сильнодействующими ядами. М., 1962.
Прокофьева-Бельговская А. Ф. Цитология, 1963, 5, 1, 5.
Пророков И. Р. Труды физиологической лаборатории И. П. Павлова, 1941, 10, 345—360.
Рапопорт И. А. Микрогенетика. М., 1965.
Рапопорт И. А. Токсикогенетика. В сб.: Итоги науки. Фармакология и токсикология. М., 1966, 7—46.
Рассказова Т. В. Труды Одесского медицинского института, 1958, т. 3, с. 113.
Рассказова Т. В. В кн.: Научная сессия Одесского государственного медицинского института им. Н. И. Пирогова. Тезисы докладов. Одесса, 1960, с. 50—51.
Ребиков Е. И. Клин. мед., 1953, 31, 10, 17—24.
Резонтов В. А. Вопр. мед. химии, 1965, II, 4, 95—99.
Рекомендации по статистической обработке результатов экспериментально-токсикологических исследований. М., 1965.
Розенталь И. С. Русск. физиол. журн., 1922, 5, 1—3, 157—160.
Розин М. А. В кн.: Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. Л., 1954, с. 183—189.
Розинов Н. С., Усенко Ф. И. Заготовки и применение торфяных удобрений, 1948.
Ромейс Б. Микроскопическая техника. М., 1953.
Роскин Г. И. Микроскопическая техника. М., 1951.
Роскин Г. И., Левинсон А. И. Микроскопическая техника. М., 1959.
Рощин А. В., Саноцкий И. В. (ред.) Отдаленные последствия влияния

на человека химических веществ, применяемых в промышленности и сельском хозяйстве. М., 1969.
Рубановская А. А. Изменения проницаемости сосудов глаза и кожи кроликов при хроническом введении внутрь кобальта. М., 1960, 99—100.
Рухадзе Э. В. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1960, 1, 121.
Рылова М. Л. В кн.: Труды научной сессии Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний, посвященные итогам работы за 1956 г. Л., 1958, с. 141—142.
Рылова М. Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. М., 1964.
Рябиновская А. М. Труды Института высшей нервной деятельности АН СССР. Серия физиол., 1960, т. 4, с. 152—154.
Рязанов В. А., Буштуева К. А., Новиков Ю. В. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1957, в. 3, с. 117.
Саватеев Н. В. В кн.: Физиологическая роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных веществ. Л., 1957, с. 49—53.
Савина М. Я. Гиг. и сан., 1963, 1, 45.
Савченков М. В. В сб.: Конференция молодых научных работников Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР. М., 1965.
Сагал А. А. Тезисы докладов 3-го совещания по применению математических методов в биологии. Л., 1961, с. 73—75.
Саляев В. Н. В сб.: Материалы докладов XVIII научной конференции по вопросам гигиены труда, профпатологии и промышленной токсикологии. Ярославль, 1963, с. 37.
Самедова П. А. Труды Азербайджанского научно-исследовательского ин-та эпидемиологии, гигиены и микробиол., 1957, 324.
Санитарные нормы проектирования промышленных предприятий. СН 245-63. М., 1963.
Саноцкий И. В. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1961, в. 2, с. 83—94.
Саноцкий И. В. В кн.: Промышленная токсикология и клиника проф. заболеваний химической этиологии. М., 1962, 105, 35.
Саноцкий И. В. Фарм. и токсикол., 1964, 5, 7.
Саноцкий И. В. Гиг. труда и проф. заболевания, 1964, 2, с. 6.
Саноцкий И. В. Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1965, с. 108.
Саноцкий И. В. Общие вопросы промышленной токсикологии. М., 1967, с. 4—6, 19—23.
Саноцкий И. В. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1967, в. 9, с. 7—19, 71—77.
Саноцкий И. В. В кн.: Итоги науки. М., 1968.
Саноцкий И. В. Гиг. труда и профзаболевания, 1969, 7.
Саноцкий И. В. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1968, в. 8.
Саноцкий И. В. и соавторы. Материалы 3-й конференции по гигиене труда и токсикологии пестицидов. Киев, 1968.
Сайтанов А. О. Материалы по токсикологии радиоактивных веществ. М., 1960, с. 102—120.
Сайтанов А. О. Бюлл. экспер. биол. и мед. М., 1960, 6, 102—108.
Сайфутдинов М. М. Гиг. и сан., 1966, 5, 7.
Сафьян Б. Э., Шудик В. М. Гиг. труда и проф. заболевания, 1960, 3, 41.

Светлов П. Г. В сб.: Вопросы цитологии и общей физиологии. Изд. АН СССР. М.—Л., 1960, 263—285.
Сгибнева Л. П., Работникова Л. В. В сб.: Вопросы гигиены труда и профессиональной патологии. Материалы научной сессии, посвященной 50-летию Великой Октябрьской социалистической революции. Л., 1967, с. 201—204.
Северин С. Е. и *Ян Фу-Юй.* Биохимия, 1960, т. 25, в. 5, с. 855.
Северин С. Е. В кн.: Химическое основы процессов жизнедеятельности. М., 1962.
Селецкая Л. И. Проблемы физиологической оптики, 1948, 6, 319.
Сергеев Б. Ф. Журн. высш. нервн. деят., 1959, 3, 445—450.
Сергеева А. И., Татаринов Л. И., Ульянов М. Ю. Материалы 3-й Поволжской конференции физиологов, биохимиков. Горький, 1963, с. 314.
Сергиевский М. В. и *Иванов Ю. Н.* Труды Куйбышевского медицинского института. Куйбышев, 1961, т. 18.
Серова Л. В. Журн. общей биол., 1964, XXV, 3.
Сидоренко В. С. Врач. дело, 1957, 6, 645—646.
Сидоров К. К. В кн.: Институт гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР. Конференция молодых научных работников. М., 1965.
Сидоров К. К. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1967, в. 9.
Скулачев В. П. Успехи биол. химии, 1964, 6, 180.
Слюсарь М. П., Василенко Н. М., Лабунский В. В. В кн.: Материалы научной сессии Донецкого научно-исследовательского института гигиены труда и профзаболеваний. Донецк, 1965, с. 176—177.
Слюсарь М. П., Василенко Н. М., Лабунский В. В. Гиг. труда и профзаболевания, 1967, 2, 55—56.
Смелянский З. Б. Гиг. и сан., 1957, 11, 67—69.
Смирнова М. И. Мед. радиол., 1961, 4, 11, 42.
Смирнова-Замкова А. И. Арх. патол., 1946, V—VI, 8, 3.
Смирнова О. В., Кузьмина Г. А. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1966, 4, 8.
Смит Г. Стандарты правильного обращения с химикатами. М., 1965.
Современные методы и техника морфологических исследований. Под ред. Д. А. Жданова. М., 1955.
Соколов В. В. В кн.: Профессиональные заболевания в химической промышленности. М., 1965, с. 21—26.
Соколов Е. Н. Ориентировочный рефлекс и вопросы высшей нервной деятельности в норме и патологии. М., 1959.
Соколов Н. П. Лабор. дело, 1955, 3, 20—21.
Соколовская Я. Я. Арх. патол., 1948, 4, 9—14.
Соломин Г. И. Гиг. и сан., 1964, 2, 3.
Сонкина В. А. Тезисы докладов семинара «Развитие физиологического приборостроения для научных исследований в биологии и медицине». М., 1966, с. 82—83.
Софьина Л. И. Тезисы докладов молодых научных работников Института гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР, 1965, с. 28.
Сперанский С. В. Фармакол. и токсикол., 1965, 1, 123.
Справочник акушера-гинеколога под ред. А. Л. Каплана, О. В. Макеевой. М., 1965.
Справочник по клиническим функциональным исследованиям. Под ред. А. Гиттера, Л. Хейльмейера. М., 1966.
Спыну Е. И. В кн.: Киевский институт гигиены труда и профзаболеваний. Тезисы докладов. Киев, 1954, с. 14—15.

Стасенкова К. П. Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1961.
Степанова Н. Г. Лабор. дело, 1962, 5, с. 49—53.
Степанский Г. А. В кн.: Общие вопросы промышленной токсикологии. М., 1967, с. 15.
Стоянов С. Гиг. труда и проф. заболевания, 1961, 2, 37.
Стоянов Б. Г. Сов. мед., 1963, 4, 33.
Стояновский А. Ф., Рассказова Т. В. Гиг. и сан., 1961.
Субботин М. С., Лагучев С. С. и др. Гистологическая техника. Под ред. В. Г. Елисеева. М., 1954.
Супоницкая В. М. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1964, 11, 107.
Сюй Бин. Фармакол. и токсикол., 1956, 3, 33—36.
Таргмадзе К. С. Гиг. труда и проф. заболевания. 1958, 2, 56.
Тарнопольская М. М., Макотченко В. М. и др. Гиг. и сан., 1964, 8, 19.
Тарханов И. Р. Вестник клинической и судебной психиатрии и невропатологии, 1889, 7, 1, 73.
Тахиров М. Т. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1960, в. 4, с. 39.
Тейсингер Я., Шкрамовский С., Сробова Н. Химические методы исследования биологического материала в промышленной токсикологии. М., 1959.
Тейсингер Я. и соавторы. В кн.: Промышленная токсикология и клиника проф. заболеваний химической этиологии. М., 1962, с. 6,
Терентьев П. В. и др. Кролик М., 1952, с. 319.
Терехов Ю. Е. Левашов Е. С. В кн.: Гигиена труда и охрана здоровья рабочих в нефтяной и нефтехимической промышленности. Уфа, 1967, т. 3, с. 334—335.
Тернов В. И. Мед. радиол., 1964, 8, 70.
Терсков И. А., Гительзон И. И. Биофизика, 1957, т. 2, в. 2, с. 259—266.
Тиунов Л. А., Соколова Т. И. Тезисы докладов 5-й городской токсикологической конференции Ленинградского научно-исследовательского института гигиены труда и профзаболеваний, 1957.
Тиунов Л. А., Грохольская Н. В. и др. В кн.: Промышленная токсикология и проф. заболевания химической этиологии. М., 1962, с. 84—88.
Тиунов Л. А. В кн.: Вопросы общей промышленной токсикологии. Ленинградский институт гигиены труда и проф. заболеваний. Л., 1963, с. 80—85.
Толоконцев Н. А. Гиг. и сан., 1960, 3, 29—35.
Толоконцев Н. А. В сб.: Вопросы общей промышленной токсикологии. Л., 1963, с. 93.
Толоконцев Н. А. В сб.: Применение математических методов в биологии. Л., ЛГУ, 1964, т. III, с. 135.
Томмэ М. Ф. Обмен веществ и энергии у сельскохозяйственных животных. М., 1949.
Томмэ М. Ф., Лория К. Ф. Успехи зоотехнических наук, 1935, 1, 2, 197—234.
Трахтенберг И. М., Гончарук Г. А., Балашов В. Е. Вестн. АМН СССР. М., 1966, 8, 23—30.
Троп И. Е. Тезисы докладов 3-й конференции Уральского филиала Всесоюзного общества патофизиологов. Свердловск, 1954, с. 17.
Троп Ф С. Вопросы гигиены труда, профпатологии и промышленной токсикологии, 1958, 2, 581—588.

Трошина М. М. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 2, с. 37.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. и др. В сб.: Объединенная научно-методическая конференция, посвященная памяти проф. С. И. Чечулина. Материалы работ. М., 1963, с. 83.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. Санитарная охрана водоемов от загрязнений промышленными сточными водами. М., 1963, в. 5.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. В сб.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1964, в. 6, с. 301.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. Гиг. и сан., 1966, 11, 55.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. и др. Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1965.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е., Скобцова Г. Г. Лабор. дело, 1967, 4, 218.
Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. В сб.: Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов. М., 1967, ч. III, с. 75; ч. II, с. 217.
Тугаринова В. Н., Елисеева С. В. и др. В сб.: Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов, 1967, ч. III, с. 162.
Туголуков В. Н. Лабор. дело, 1955, 4, 17.
Тульчинский М. Лабораторные методы клинического исследования. Варшава, 1965.
Тягин Н. В. Сб. изобретений и рационализаторских предложений. Воен.-мед. академии. Л., 1956—1958, 4, 86—87.
Убайдуллаев Р. В. Гиг. и сан., 1966, 5, 3.
Уланова И. П. Токсикология новых промышленных химических веществ, 1961, в. I, с. 96—113.
Уланова И. П., Гаркави П. Г. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1961, в. I, II.
Уланова И. П., Гаркави П. Г., Самойлова Л. М. В сб. :Токсикология новых промышленных химических веществ, 1961, в. 1, с. 29.
Уланова И. П., Самойлова Л. М., Авилова Г. Г. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1963, в. 5, с. 80—89.
Уланова И. П. В кн.: Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1965, с. 518.
Уланова И. П., Сидоров К. К., Халепо А. И. В сб.: Вопросы гигиены труда и профпатологии в химической и машиностроительной промышленности. Харьков, 1966, 50.
Уланова И. П., Сидоров К. К., Халепо А. И. Общие вопросы промышленной токсикологии. М., 1967, с. 43.
Уланова И. П., Саноцкий И. В. и соавторы. Материалы научной конференции, посвященной вопросам гигиены труда, промышленной токсикологии и профпатологии в нефтяной промышленности. Баку, 1966.
Уланова И. П., Саноцкий М. В. и соавторы. Труды I Международного симпозиума по высшей нервной деятельности в медицине. Прага, 1966.
Уланова И. П., Позднякова Г. И. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1967, в. 9, с. 43.
Уланова И. П., Сидоров К. К., Халепо А. Н. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ. Л., 1968, в. 10, с. 18.
Уланова И. П., Саноцкий И. В. и др. Гиг. труда и проф. заболевания, 1969, 7, 22.

Умбрейт В. В. Манометрические методы изучения тканевого обмена. М., 1951.
Урбах В. Н. Биометрические методы. М., 1964.
Успенский Ю. Н. Физиол. журн. СССР, 1966, 52, 11, 1394—1397.
Уфлянд Ю. М. Физиол. журн. СССР, 1937, XXIII, I, 33—34.
Ухтомский А. А. Физиология двигательного аппарата. Л., 1927, в. I, гл. III.
Ушаков А. А. Вестн. советской оториноларингологии, 1932, 4, 457.
Федоров В. К. Электрооборонительная лабиринтная методика изучения высшей нервной деятельности, 1964, 115—130.
Фельдман Ю. Г. В сб.: Предельно допустимые концентрации атмосферных загрязнений. М., 1962, в. 6, с. 109.
Филатова Л. Г. В сб.: Опыт изучения регуляций физиологических функций в естественных условиях существования организмов. М.—Л., 1949, т. I.
Филимонов В. Г. Пат. физиол. и экспер. тер., 1959, 3, 6, 64—65.
Филов Б. А., Люблина Е. И. Биофизика, 1965, 10, 4, 602—608.
Фишер А. Физиология и экспериментальная патология печени. Будапешт, 1961.
Фрадкин В. А. Вестн. АМН СССР, 1963, 4, 77.
Франтик Э., Хорват М. Журн. высш. нерв. деят., 1964, 14, 2, 358—363.
Фридлянд И. Г. Значение неблагоприятных производственных факторов в возникновении и течении некоторых заболеваний. М., 1966.
Фогельсон Л. И. Клиническая электрокардиография. М., 1957.
Фурсиков Д. С. Арх. биол. наук., 1922, 21, 3—5, 188—190.
Халепо А. И., Сидоров К. К. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1967, в. 9, с. 27—37.
Хвапил. Гиг. труда и проф. заболевания, 1960, 4, 33.
Ходас М. Я. Биофизика, 1960, т. 5, в. 3, с. 369.
Ходжай Я. И. Вопросы физиологии и патологии коронарного кровообращения. Киев, 1960, с. 142—147.
Ходжай Я. И. Фармакол. и токсикол., 1961, 2, т. 24, 227—233.
Холодов Ю. А. Физиология человека и животных. М., 1964.
Хорват М. и др. Гиг. труда и проф. заболевания, 1965, 3, 9.
Хорсфолл Дж. Г. Фунгициды и их действие. М., 1948.
Хоцянов Л. К. Руководство по гигиене труда. М., 1958.
Хрусталев А. С. Лабор. дело, 1956, 4, 27.
Хухрина Е. В. Гиг. и сан., 1943, 4, 38.
Хухрина Е. В. Гиг. и сан., 1952, 2, 29.
Хухрина Е. В. Гиг. и сан., 1956, 1, 31.
Хухрина Е. В. Гиг. и сан., 1959, 7, 50.
Хухрина Е. В. Гиг. труда и проф. заболевания, 1964, 5, 3.
Цкипуридзе Л. Р. Сообщение АН Груз. ССР, 1942, 3, 929; 1943, 4, 469.
Цобкалло Г. И. В кн.: Исследования в области промышленной токсикологии. Л., 1940, с. 195—206.
Цой Л. М. В кн.: Материалы научной сессии по токсикологии высокомолекулярных соединений. М.—Л., 1961, с. 47—48.
Цыркунов Л. П. Гиг. и сан., 1962, 11, 28.
Цыркунов Л. П. Гиг. труда и проф. заболевания, 1966, 10, 52.
Чакырев Е. А., Начев Ч. К. Урология, 1963, 4, 19—25.
Чепинога О. П. В кн.: Общие вопросы промышленной токсикологии. М., 1967, с. 70.

Черкинский С. Н. Тезисы научной конференции по вопросам экспериментальной патофизиологии и терапии высшей нервной деятельности животных, М., 1952, с. 105—107.
Черкинский С. Н., Тугаринова В. Н. Врач. дело, 1960, 5, 527—530.
Черкинский С. Н., Красовский Г. Н., Тугаринова В. Н. В сб.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1964, с. 6—290.
Черкинский С. Н., Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е. В сб.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1965, в. 7, с. 280.
Черниговский В. Н. (ред.). Методика изучения типологических особенностей высшей нервной деятельности животных. М., 1964 (232 стр. с иллюстрациями).
Чернов В. М. Фармакол. и токсикол., 1947, X, 2, 39—44.
Чернов В. А. Цитостатические вещества в химиотерапии опухолей. Автореф. докт. дисс. М., 1960 (313).
Чернов В. А., Грушина А. А., Лыткина Л. Г. Фармакол. и токсикол., 1963, I, 102.
Черняева Л. В., Кришталь С. С. Тезисы докладов научной студенческой конференции Одесского медицинского института, 1958, с. 102.
Чистяков И. А. Физиол. журн. СССР, 1958, 10, 1003—1005.
Шабад А. М. Гиг. и сан., 1966, 11, 18—24.
Шабад Л. М., Андрианов Л. А. Ускоренные методы определения канцерогенных свойств. Серия «Успехи науки». М., 1966, № 7.
Шаган Б. Ф., Мерсон Б. Г. Труды Киргизского медицинского института. Фрунзе, 1960, т. 13, с. 311—312.
Шальнова Г. А. Лабор. дело, 1962, 12, 12.
Шапиро Д. Д. В кн.: Вопросы гигиены труда в горнорудной химической и машиностроительной промышленности. Госмедиздат УССР. Киев, 1958, с. 112.
Шарина Е. Г. В сб.: Вопросы гигиены в связи с развитием большой химии. М., 1964, с. 154.
Шахова И. К. Успехи совр. биол., 1965, 60, 1, 76—89.
Шейкин Р. Л. Вопросы физиологии и патологии нервной системы, 1958, с. 40—42.
Шехонин Б. П. В кн.: Вопросы проницаемости кровеносных капилляров в патологии. М., 1949, т. I, с. 31—38.
Широков Ю. Г. Прибор для распыления порошкообразных веществ в целях их токсикологического исследования. М., 1960.
Шмакова Н. Л. Радиобиология, 1965, т. 5, в. 2, с. 275.
Шор Я. Б. Статистические методы анализа, контроля и надежности. М., 1962, с. 203—204, 278.
Шпильберг П. И. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1947, 24, 10, 271.
Штейнберг Г. Б., Вильщанская Ф. Л. Материалы XIX Московской научно-практической конференции по проблеме промышленной гигиены, 1963, с. 18.
Штерн К. Основы генетики человека. М., 1965.
Штрауб Ф. Б. Биохимия, 1963.
Шуб Г. М. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1964, 8, 137.
Шуб Г. М. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1965, 1, 45.
Шубик В. М., Сафьян Б. Э., Шубик Ю. Г. Гиг. и сан., 1959, 9, 62.
Шульга Т. М. Гиг. и сан., 1961, 3, 3—8.

Шумская Н. И. В сб.: Токсикология новых промышленных химических веществ, 1961, в. 2, 50—58.
Шумская Н. И. Гиг. труда и проф. заболевания, 1961, 12, 34.
Шумская Н. И. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1962, 52—64, 4.
Щеглова А. В. Материалы научной сессии Государственного научно-исслед. ин-та гигиены труда и профзаболеваний. Л., 1963, с. 84.
Эйткен Ф., Уилсон У. Кормление кроликов, 1966.
Эпштейн И. М. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1960, 50, 12, 104.
Эпштейн Л. Б. Вестн. оториноляр., 1938, 3, 456.
Ягнов С. Пробл. гематол. и перелив. крови, 1959, 4, 4, 41—45.
Яковлева С. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1939, 7, 4, 293—296.
Янковская У. Л. Физиол. журн. СССР, 1958, т. 44, 7, 68.
Ярмоненко С. П. Мед. радиол., 1959, 4, 3, 52—57.
Яхонтов Е. Я. Лабор. дело, 1959, 4, 32—33.

б) **Иностранная**

Auerbach Ch. Апп. N. Y. Acad. Sci., 1958, 68, 731—736 (316).
Abraham R. A., Bhargava P. M.. Biochem. J., 1963, 96(36), 2, 298—307.
Adhuhr F., Stenström N. Acta paediat., 1930, 9, 307.
Amdur M. O., Mead J. J. Physiol. (London), 1958, 192, 2, 364—368.
Augustinsson K., Hembürger G. Acta Chem. Scand., 1953, 1954, 8, 753; 762.
Barnes J. M. The assessment of the toxicity of food adjuhets. Volding, 1955, 16, 7, 658.
Barron. Toxicol.,a. Appl. Pharmacol., 1964, 6, 4, 402—410.
Bateman A. G. Genet. Res., 1960, 1, 381.
Bateman A. G. Nature, 1966, 210, 5032, 205—206.
Battig K. Verhaltensmessung bei der ratte in dienste der angewandten experimentellen psychologie. XV Congress International de med. du travail. Wien, 19—24, 9, 1966. Simposium higher nervous functions and Occupational Health. Prag., Septem. 12—15, 1966.
Beckmann K. Die Leberkrankheiten. Diagnostik und Therapie. Stuttgart, 1957, 35.
Behrendt H. Diagnostic tests in ifants and children. London, 1962.
Behrens B. Arch. Exp. Path. und Pharmak., 1929, 140, 237.
Beinfield L. J. Appl. Physiol., 1956, 9, 2, 153—156.
Benedict F. G. Canheg. Inst. Washington. Publ., 1938, № 503.
Berg J. Jerontal., 1955, 10, 4, 420—423.
Biekert E. W. Z. Immun.-Forsch., 1929, 60, 297.
Biggs H. I., Cooper I. M. Clinical Chemistry, 1961, 7, 6.
Birnbaum D. Holl Th. An electroejuletion technique for rats Anat. Res., 1961, 140, 1, 49—50.
Bishop D. W. Physiol. Rev., 1962, 42, 1, 1—59.
Blaschko H., Humms J. Brit. J. Pharmacol. a. chemicotherapy, 1955, 10, 4, 451—453.
Bloch Br. Arch. Derm. Lyph. (Chicago), 1924, 145, 34.
Blohm G. Abstr. VI Europ. Congr. Allerg. Stockholm, 1965, p. 76.
Bodansky A. Phosphatase studies. J. Biol. Chem., 1933, 101, 93.
Bonvallet H., Dell P., Hiebel G. E. E. G. a. Clin Neurophys., 1954, 6 1, 119.
Borek F., Stupp. V., Sela M. Abstr. VI Europ. Congr. Allerg. Stockholm, 1965, p. 54.
Boyden S. V. J. Exp. Med., 1951, 93, 2, 107.
Brown. Anil bvalnat drug activities pharmacometries, 1964, 1, 111.
Bruns F. Brosswitz E., Dennemann H., Horn H., Valtmann E. Klin Wschr., 1961, 39, 7, 342—346.
Buresch H. Arch. Hyg Bact. 1933, 109, 4.
Burger A. Pure a Appl. Chem., 1961, 3, 1—2.
Burstein M., Samaille J. C. R. Acad. Sci. 1956, 243, 25, 2185.
Burstone M. S. Enzyme Histochemistry and its Application in the study of neoplasms. New York — London, 1962. Acad. press.
Casals J. P. K. Olitsky. Test for hepatic dysfunction of mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1946, 63, 383.
Cattanach B. The sensivity of the mouse testis to the mutagenic action of trethylenmelamine. Z. Vererbungse, 1959, 90, 1.
Cattanach B. M. Z. Vererbungsl., 1965, 165, 92.
Cattanach B. Z. Mut. Res., 3, 346, 1966.
Chase M. W. J. exp. Med., 1947, 86, 6.
Ch. Auerbach of oth. Nature, 1949, 168, 678.
Conway E. I. Biochem. J., 1935, 29, 2755.
Cramer W., Stowell E. Cancer Res., 1943, 3, 678.
Deichmann B. W., Le Blanc T. I. J. Industr. Hyg. Toxicol., 1943, 25, 9, 415.
Denton R., Litt M. a. *Hwang S. H.* Chem. Engng. Progr. Sympos. Ser., 1966, 62, 66, 12—18.
Desi I. a. *Sos. J.* The effect of long lasting xylene poisoning on the behaviour of rats and mice. XV Congress Inten. de med. du travail. Wien 19—24. 9, 1966. Simposium higher nervous functions and occupational health. Prag. September 31—33, 1966.
Dimond A. E., Horsfall J., Neuberger J. W., Stoddart E. M., Connecticut Agr. Exp. Sta. Bull., 1941, 451, 635.
Dixon W. J., Mood. A. M. J. Ann. Statist. Ass., 1948, 43, 241, 109.
Dodson L. E., Mackanes. Brit. J. exp. Path., 1957, 38, 68.
Druckrey H. Arzneimittel-Forsch., 1957, 7, 8, 449.
Eckardt R. E., Industrial Carcinogenes. New. York — London, 1959, 164.
Eve C., Robinson S. H. Lab. Clin. Med., 1963, 62, 169.
Evers A. Arch. Hyg. (Berl)., 1931, 106, 4.
Falconer D. S., Slizynski B. M. Z. Genet., 1952, 51, 81.
Felix K., Teske R. Z. Physiol. Chemie, 1940/41, 267, 4—5, 173.
Fere C. Note sur de modification de la resistance electrique sous l'eufluences de exitations seusorielles et de emotions. C. R. Soc. Paris, 1888.
Ferguson S. H. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1962, 4, 6, 759.
Flax M. H., Waksman B. H. J. Immunol., 1962, 89, 4, 496.
Fleisher I. H., Pope E. I. Arch. Industr. Hyg. Occup. Med., 1954, 9, 323.
Ford E. H. R., Wollan D. H. M. Exp. Cell Res., 1963, 32, 2, 320—326.
Fraenkel A. Arch. exp. Path. Pharmak., 1904, 51, 84.
Frawleg J. P., Hagan E. C., Fitzhyg O. G J. Pharm. (Lond.), 1952, 105, 156.
Fredriksson T. Acta dermato-venereologica, 38, suppl. 41, Stockholm, 1958.
Fredriksson T. Acta dermato-venereologica, 1961, 41, 353—362.
Frey J. R., Geleik H. Intern. Arch. Allerg., 1961, 19, 6, 409.
Fridericia L. S. Biochem. Ztschr., 1913, Bd. 5, S. 92.
Gauf J. E. J. Investig. Dermat., 1957, 29, 5, 311.
Gerarde H. W. Arch. Ind. Health., 1956, 13, 4.

Giaja J. C. R. Soc. Biol. Parix, 1938.
Goldwater L. Dangerous properties of industrial materials. London, 1961.
Gray W. H., Trewan J. W., Bainbridge H. W., Attowood A. P. Proc. roy. Soc. Med. Series B., 1931, 108, 755, 54.
Gray D. F., Noble J. L., O'Hara M. J. Hyg. (Lond.), 1961, 59, 4, 427.
Griffith J. F. Toxicol. a. Appl. Pharmacol., 1964, 6, 6, 726.
Gun Semud A., Gould Theln C., Anderson W. A. D. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 1965, 119, 3, 900—995.
Guyton A. C. Am. J. Physiol., 1947, 150, 3.
Hadnagy Cs., Kovats J. Acta physiol. Acad. Sci. hung., 1954, 5, 1/2, 325.
Haider M., Kovac W. a. Studynka. Behavioural changes related to toxic influences on certain region of the central nervous system. XV Congress Internat. de Med. du travail, Wien, 19—24, 9, 1966. Simposium higher nervous functions and Occupational Health. Prag. Septem. 12—15, 1966.
Hancock G. L., Show G. G. A new differens between live and dead spermatozoa. Nature, 1955, 176, 4475, 260.
Hanson M. C. L. Minnesota med., 1956, 39, 12, 764.
Hartwell J. H. Survey of Compounds which have been tested for carcinogenic Activity. Washington, 1951.
Hashimoto K. a. Andoh. XV Congress Internation. de med. du travail. Wien, 1924, 9, 1966, Simposium higher nervous functions and occupation health. Prag. Septem. 12—15, 1966.
Häusler H. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 1936, Bd 18, S. 345, 1936.
Hatcher R. A. Arch. intern. Med., 1910, 10, 268.
Head C. J., Bow T. M., et al. Science, 1955, 121, 779.
Heimburg A. V., Schmidt L. Arzneimittel-Forsch., 1959, 9, 5, 321.
Higashida T. XV Congress Internat. de Med. u travail, Wien 19—24, 9, 1966. Simposium higher nervous functions and occupational health. Prag., Septem. 12—15, 1966.
Hine C. H., Kodama J. K., Anderson H. H., Simonson D. W., Wellington J. S. Arch. Industr. Helth., 1958, 17, 2, 129.
Hirschboek V. S. J. Lab. clin. Med., 1948, 33, 3, 347—355.
Hochster K., Quastel J. Metabolic snhibetors. New York — London, 1963, v. 1—2.
Hochwald A., Reckemann F. M. J. Immunol., 1946, 59, 2, 191.
Hoffmann G. Abrip der Laboratoriumstierkundle. Jena, 1961.
Hoge H. C., Sterner L. H. Am. Industr. Hyg., Ass. Quart., 1943, 10, 4, 93.
Hoigné R. Schweiz. med. Wschr., 1955, 24, 578 und 52, 1272.
Horiuchi K. a. Morioka S. XV Congress Intern. de Med. du travail. Wien 19—24, 9, 1966. Simposium higher nervous functions and occupational health. Prag. Semptem. 12—15, 1966.
Horita A. Toxicol. a. Appl. Pharmacol., 1961, 3, 4, 474—480.
Horvath M., Frantic E., Grosmanova E., Mikiskova H. Tractats of Symposium Higher nervous functions and occupational health Prague 1966 (as part of XV International Congress of Occupational Health in Vienna).
Hunziker N., Jadasson W. Abstr. VI Europ. Congr. Allerg. Stockholm, 1, 1965, 1, 4.
Iordan P. H., Sand B. E. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 1957, 96, 200.
Jadassohn I. Ref. Zbl. Haet — hgarohl kr., 1931, 37, 658.
Jadassohn I. Dermatologie. Vienna — Bernn, 1938.
Jaeger H. Arch. Malad. Profess. , 1955, 16, 4, 80—85.
Jankes J. a. Kršiak M. Experimental detection of neurotoxic side — effects. Excerpta Medica International Congress Series 118, VIII, Neurotoxity of drugs Prague, June — July, 1966.
Jordan, Sokoloff G. Gerontol., 1959, 14, 3, 344—348.
Juhlin L. Abstract. Symp. VI Europ. Allerg. Stockholm, 3.
Kampmann E., Frey H. Med. exp., 1963, 9, 3, 137.
Karnofsky D. A. Ann. Rev. Pharmacol., 5, 447—473, 1964.
Kleckner M. S. Cirrhosis of the liver Springfield, 1960.
Knoll J. Internat. Meeting on the techniques for study psychotrophic Drugs. Bologna, 1960.
Kutob S. D., Plaa G. L. J. Appl. Physiol., 1962, 17, 1, 123.
Laurence K. A., Carpuh O. Fertility a. sterility, 1963, 14, 4, 451—455.
Laboratory animal care panel, various publication. Chicago.
Lat J. Proc. roy. Soc., B., 153, 347, 1960.
Lea W. A., Block W. O., Cormish H. H. Arch. Derm. Syph (Chicago), 1958, 78, 3, 304.
Lehman H. Arch. Hyg. (Berl.), 1912, 75.
Lendle L. Arch. exp. Path. Pharmac., 1936, 180, 518.
Lentz W. Arz. Mittl., 47, 494—510, 1962.
Lepeschkin E. Das Elektrokardiogramm, Dresden — Leipzig, 1957, 130.
Levnn H. Nature, 1943, 156, 751.
Levin H. D., Bristol N. H. Am. Heart. J., 1942, 24, 209.
Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E. Arch. intern. Phar. Therapie, 1961, 130, 3—4, 336.
Litchfield J. T., Wilcoxon F. J. J. Phamacol exp. Ther., 1949, 96, 2, 99.
Little I. R., Brecher J. et al. Blcod, 1962, 19, 236.
Lowry O. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265—275.
Magnuson H. J. Arch. Environment Health.,1965, 10, 4, 542—545.
Malten K. E. Abstr. VI Europ. Congr. Allerg. Stockholm, 1965, 25.
Mandl A., Zuckerman J. J. Endocrinology, 1951, 7, 2, 103—111, 190—193; 3, 227—234.
Mandl A., Zuckerman J. J. Endocrinology, 1952. 84, 343—354.
Mann F. The Biochemistry of Semen., 1954.
Maroulis B. Fertility a. Sterility, 1962, 13, 3, 281—286.
Massman W., Opitz H. Z. ges. exp. Med., 1954, 124, 1, 535.
Mawrogordato — Contribution to the study of miners phtisis. South Afr. Inst. Publ., 1926, 19.
Mayer R. L. J. Allergy, 1957, 28, 3, 191.
Mikiskova H. Mikiska A. Brit. J. Ind.Med., 1966, 23, 116.
Mieby T. H., Epstein W. L. Arch. environm. Hlth., 1964, 9, 4, 434.
Miller C. L., Tainter M. L. Proc. Soc. exp. Biol. Med (N. Y.), 1944, 57, 261.
Minecki L. The effects of highrequency electromagnetic fields. XV Congress Intern. de Med. du travail. Wien 19—24, 9, 1966. Simposium higher nervous functions and Occupational health. Prag. Sept., 12—15, 1966.
Mintz D. E. Science. 1962, 138, 539, 516—517.
Mlodecki H. Roczn. panstw. Zakl. hig., 1960, 11, 5, 395.
Monesi V. J. Cell. Biol., 1964, 22, 3, 521—532.
Morrison P. R., Pearson O. P. Science, 1947, 104.
Muller H. J. Science, 1955, 121, 3155, 837—840.
Muller H. J. New radiation changes the genetic constitution. Proc. Internat. Conf. Peaceful USES of Atomic Energy, II Geneva, 1955.
Nausch A., Pygrt J. Pracovni lekarsti, 1959, 11, 236—238.
Neubauer O. Bibliography of cancer produced by pure chemical compounds. London, 1959.

Neuman A. J. biol. Chem., 1950, 184, 186.
Olson K. Evaluating the toxicity and hazards of chemicals. Research, 1961, 14, 10, 388—394.
Ovary Z. Ann. Inst. Pasteur, 1951, 81, 670.
Pantlen H., Ruppel W. Münch. med. Wschr., 1954, 96. 24, 706.
Pislary V. Igiena, 1960, 2, 127—135.
Raboch J., Homolka J. Fertility a. Sterility, 1961, 12, 4, 368—374.
Rappoport F. Eichhorn F. Lancet., 1947, 11, 5, 171—172.
Reitman S., Frankel S. Am. J. clin. Path., 1957, 28, 1, 56.
Reynolds W. F., Pavlik W. B. J. Comp. a. Physiol. Psychol., 1960, 53, 6, 615—618.
Richards C. C , Bachman L. Current Res. anesthes., 1955, 34, 5, 307.
Ricketts W. E. Am. J. med. Sci., 1951, 221, 3, 287.
Robbins, Monro. Ann. Math. Statist., 1951, 22, 400.
Ronai P. M. Transplantation, 1966, 4, 2, 208.
Ronzani E. Arch. Hyg. (Berl.), 1908, 67, 287 u. 1909, 70, 217.
Rothman S. Physiology and biochemistry of the skin. Perkutancos absorbtion . University of Chicago Press, 1954.
Rowley D. A., Chutkow J., Atting C. J. exp. med., 1959, 110, 5, 751.
Salle J. et *Brunand M.* Arch. int. Pharmacodyn., 1960, 126, 1—2, 120—125.
Schirren C. G. Reprodiation a. Fertility, 1963, 5, 3, 347—358.
Schirrmiester S. Arch. Kreislaufforschung, 1939, 5, 246.
Schneider W. C. J. Chem., 1952, 198, 1, 155.
Schulte J. H. Arch. Environment Health., 1963, 7, 5, 524.
Schubik Ph., Hartwell J. L. Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity. Washington, 1957, Suppl. I.
Skramlik E. Pflüg. Arch. ges. Physiol., 1948, 249, 702.
Slopak L. u. *Hermanek P.* Z. Kreisl-Forsch., 1957, 46, 13b.
Smyth H. F. a. *Carpenter C. D.* J. Industr. Hygiene a. Toxicol., 1944, 26, 8, 269.
Smyth H. F., Carpenter C. P., Weill S. Arch. Industr. Hyg. a. Occup. med., 1951, 4, 2, 119.
Smyth, Carpenter a. oth. Rang. finding test. List. I. J. industr. toxicol. a. occup. med., 1944; 24, 269.
List 2 — J. industr. a. occup. med., 1948, 30, 63.
List 3 ,, ,, 1949, 31, 60.
List 4 ,, ,, 1951, 4, 2.
List 5 ,, ,, 1951, 4, 3.
List 6 Industr. Hyg. Ass. J., 1962, 23, 2, 95—107.
Stacy B. D., King E. J. Brit. J. Industr. Med., 1954, II, 3, 192.
Stejskal. Zbl. Hautkrankh., 1928, 26, 537.
Stöber W., Einbrodt H. J., Klosterkötter W. Inhalod particles and Vaporns, v. 2. Pergamon Press, 1967, 409.
Stocker H. Z. Kreisl-Forsch. 1940.
Stokinger H. Arch. environment Health., 1962, 4, 115.
Sun Ray Vuan. Acta Pharmacentica Sinica, 1963, X, 2, 65.
Teisinger J. Biologische Exposition testen ni der industrial Toxicologie Handbuch der gesamten Arbeitsmedizin, Urban, Schwarzenberg, Wien.
Threshold. Limit Values for 1965 adopted at the 27 th annual meeting of the ACGIH, Houston, Texas, May 2—4, 1965. For 1966. Recommended and tentative limits. Adopted at the 28th. Annual Meeting of the American Conference of Govermental Industrial Hygienists Pittsburgh, Pensylvania, 1966, may 16—17.
Trams E. G., Nadkarnin M. V. Cancer Res., 1956, 16, 1069.
Treger. J. Physiol., 1956, 2, 1861, 307.
Truhaut R. Concentration maximales tolerables pour les substances toxique dans l'industrie. Cahiors notes docum. Inst. Nat. Secur., 1964, 36, 163—167.
Turk J. L. Abstr., VI Europ. Congr. Allerg. , Stockhol, 1965, 23.
Turner N. J. Econ. Entomol., 1943, 36, 725.
Ulanova J. P., Sanozki T. W., Korbakowa A. I., Tolgskaja M. C. Die Anwengung de Methode von bedingten Reflexen in der industriellen Toxikologie. XV Congress Intern. de Med. du Travail, Wien 19—24,
9, 1966. Symposium highe nervous functions and Occupational health. Prag. Sept., 12—15, 1966.
Van der Waerden B. L. Arch. exp. Path. und Pharmak., 1940, 195, 389.
Van Leersum E. C. Tieren. pfeug Arch., 1911, 142, 7—8, 377—395.
Velicogna A. Giorn. batter. immunol., 1934, 13, 2, 317.
Vries A., de Alexander B. Studies on aminoacid metabolism. 3, J. clin. Invest., 1948, 27, 2, 665.
Waksman B. H. Medicine, 1962, 41, 2, 93.
Wang G. H., Stein P., Brownn V. W. J. Neurophysiol., 1956, 19, 4, 340.
Williams J. R., Harrison T. R. J. clin. Invest., 1939, 18, 1, 373.
Webb. Enzime a metabolic inhibitors, v. I—IV. New York — London, 1963.
Wilson C., Byrom F. W. J. Physiol., 1938, 93, 3, 301—304.
Werner A., Mitchell J., Miller J., Oettinger W. J. Industr. Hyg. a. toxicol., 1943, 25, 157.
Werner A., Mitchell J. and. oth. Am. industr. Hyg. Ass. J., 1943, 10, 4, 93.
Werner A., Mitchell J. and oth. Am. industr. Hyg. Ass. J., 1961, 23, 2, 95—107.
Werner A., Mitchell J., Miller J., Oettinger W. J. Behavioral regulation of environmental haseous composition. XV Congress Intern. de med. du travail. Wien 19—24. 9. Symposium higher nervous functions and occupational health. Prag. Sept. 12—15, 1966.
Whittlesey P. J. Lab. clin. Med., 1954, 43, 324.
Wilson A. Warkung-Teratology principles and techniques, 1965.
Wright B. M., Brit. J. Industr. Med., 1967, 14, 219.
Zeller E. Adv. Enzymology, 1942, 2, 93.
Zimmermann W. Chemiche Bestimmungshafhochen von Steroidhocmanen in Köferflüssigkeiten B. Springer, 1955.
Zieve L., Hill E. An evaluation of factors influensing the discriminative effectiveness of a group of liver function tests. 3. Gastroenterology, 1955, 28, 5, 785.

СОДЕРЖАНИЕ

Редактор *В. Г. Лаппо*

Техн. редактор *Н. А. Пошкребнева*
Корректор *О. П. Зубарева*
Художественный редактор *Ф. К. Мороз*
Переплет художника *С. Елинсон*

Сдано в набор 18/XII-1969 г. Подписано к печати 11/V-1970 г. Формат бумаги 84×108/32 10,75 печ. л.+ +0,25 печ. л. вкл. (условных 18,48 л.). 19,20 уч.-изд. л. Бум. тип. № 1. Тираж 4000 экз. Т05769. МН—73.

Издательство «Медицина»
Москва, Петроверигский пер., 6/8

Заказ 732
Цена 2 р. 12 к.

Ярославский полиграфкомбинат Главполиграфпрома Комитета по печати при Совете Министров СССР. Ярославль, ул. Свободы, 97.

ОПЕЧАТКИ

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать	По чьей вине
16	10 сверху Таблица 2 Столбец 3	50—5000	50—500	автора
16	Таблица 3 Столбец 3 Графа 2	1—8	1—4	автора
16	Таблица 3 Столбец 4 Графа 3Б	20—30	20—40	автора
16	Таблица 3 Столбец 7 Графа 6	500	>500	автора
38	2 сверху	2,0 lg M	2,0 + lg M	автора
38	1 снизу	lg M + lg N	lg M — lg N	автора
45	8 сверху Столбец 2	100223,6	10023,6	автора
63	Таблица 13		1 (единицу) считать относящейся не к одному, а ко всем перечисленным показателям.	автора
98	8 снизу	DLS_0	DL_{50}	автора
105	Формула 5	$\frac{D\sqrt{k}}{DL_{50_r}\cdot p}\cdot\frac{50}{Q}$	$\frac{DK}{DL_{50_r}\cdot p}\cdot\frac{50}{Q}$	автора
176	Таблица 16 Столбец 4 Графа QT	0,07—0,01	0,07—0,1	автора

Таблица 1

Наиболее частые виды исследований и их практические результаты

Характер работы		Показатели / Название исследований	Токсикометрия										Патогенез								Гигиена и клиника			
			DL^g_{50} Z_1 S	CL_{50} КВИО S	$K=\frac{DL^c_{50}}{DL^g_{50}}$	общая клиника и морфология	Кожа глаз (клиника и морфология), раздражение и сенсибилизация	Lim_{ir}	Lim_{ac} $Z_{ac}=\frac{CL_{50}}{Lim_{ac}}$	$K_{cum}=\frac{DL_{50}}{\frac{\sum DL_{50}}{n}}$	Lim_{ch}; $Z_{ch}=\frac{Lim_{ac}}{Lim_{ch}}$	K_s	генетическое действие	эмбриотропное	бластомогенное	атеросклероз и др.	поглощение, распределение, метаболизм, выведение	активность ферментов и др.	нейро-эндокринная регуляция и др.	другие исследования	обследование производства	амбулаторное или клиническое исследование работающих	гигиеническая стандартизация сырья и продуктов	гигиенический отбор технологии
Эксперимент на животных	1	Токсикологическая экспертиза	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)															+	+
	2	Первичный токсикологический паспорт	+	+	(+)	+	+	+	+	+													+	+
	3	Полная экспериментальная токсикологическая оценка	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+											+	+
Эксперимент на животных (по показаниям)	4	Прогнозирование отдаленных последствий											(+)	(+)	(+)	(+)							+	+
	5	Исследования метаболизма яда															+	(+)						
	6	Патогенез и экспериментальная терапия															(+)	(+)	(+)	(+)				
Гигиеническая оценка производства и обследование работающих	7	Клинико-гигиенические параллели																			+	+	+	+
	8	Клиническая апробация экспериментальной профилактики и терапии																				+		

Примечания. 1. В левой части таблицы в графах «Токсикометрия», «Патогенез», «Гигиена и клиника» обозначены знаком + обязательные исследования и знаком (+) исследования по показаниям.
2. В правой части таблицы в графах «Практические результаты» знаком + обозначены возможные рекомендации для практики, соответствующие каждому виду работ (по горизонтали).

Гигиена и клиника			Практические результаты													
обследование производства	амбулаторное или клиническое исследование работающих	гигиеническая стандартизация сырья и продуктов	гигиенический отбор технологии	характер защиты	ПДК по аналогии	ПДК по расчету	ПДК ориентировочная	ПДК апробированная	противопоказания для работы	программа периодических осмотров	рекомендации лечебно-профилактического питания	тест экспозиции	ранняя диагностика	дифференциальная диагностика	первая помощь	терапия интоксикации
		+	+	+	+	+			+							
		+	+	+	+	+										
		+	+	+	+	+	+			+						
		+	+	+	+	+	+			+	+					
										+	+	+	+	+		
											+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+										+		+	+	+	+

я по показаниям.
т (по горизонтали).